This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

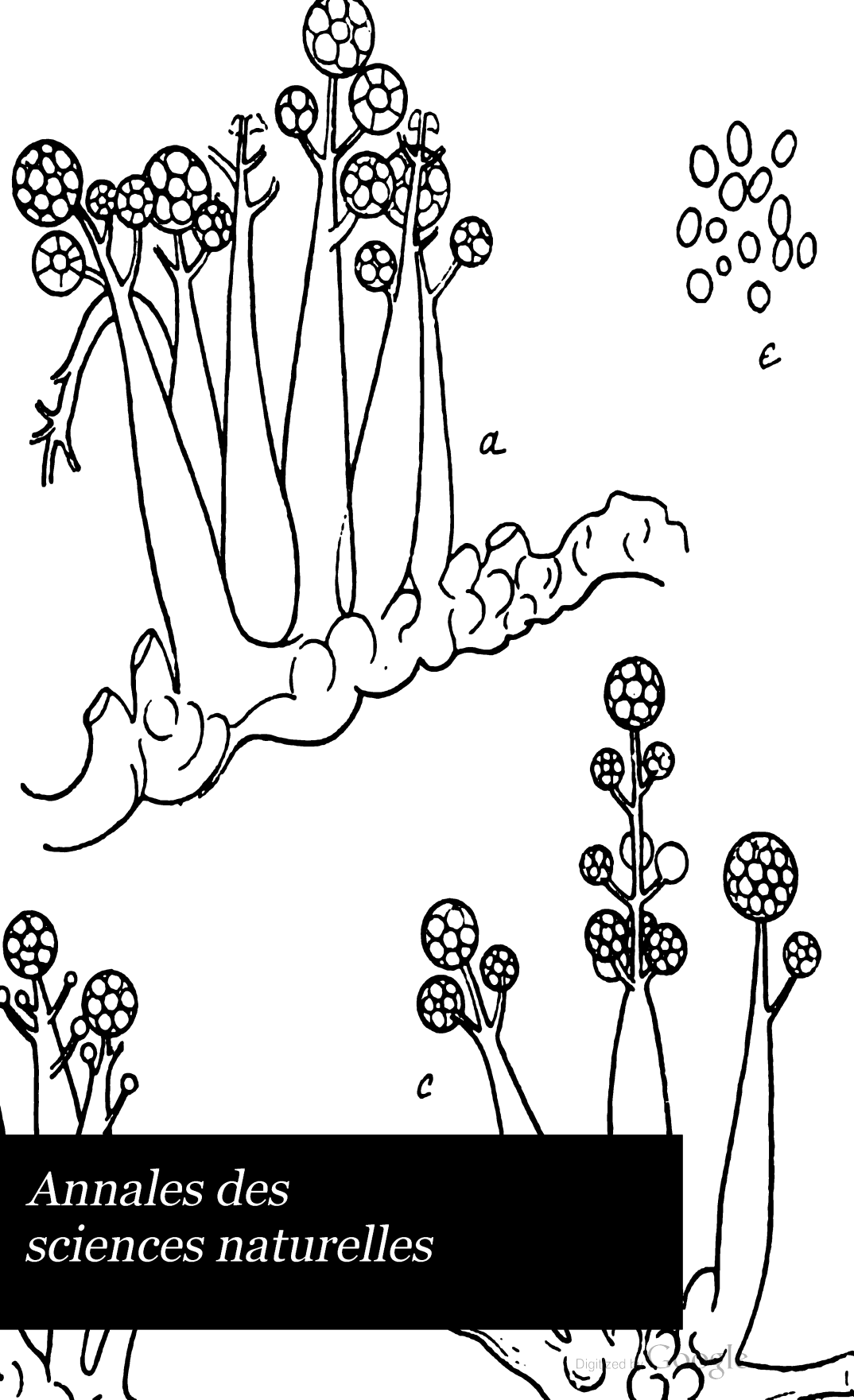
Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`



Annales des sciences naturelles

Digitized by Google

3 2044 106 411 101

44-A613 IX v.8
1903

W. G. FARLOW

44 A613 ser. IX v. 8

Harvard University

VE RI TAS

FARLOW
REFERENCE LIBRARY
OF
CRYPTOGAMIC BOTANY

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

ANNALES

DES

SCIENCES NATURELLES

NEUVIÈME SÉRIE

BOTANIQUE

Digitized by Google

CORBEIL. — IMPRIMERIE CRÉTÉ.

Digitized by Google

ANNALES

DES

SCIENCES NATURELLES

NEUVIÈME SÉRIE

BOTANIQUE

COMPRENANT

L'ANATOMIE, LA PHYSIOLOGIE ET LA CLASSIFICATION
DES VÉGÉTAUX VIVANTS ET FOSSILES

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

M. PH. VAN TIEGHEM

TOME VIII

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1908

Digitized by Google

Parlour-11

44
A513
IX v.8
1.T.5

Droits de traduction et de reproduction réservés.

Digitized by Google

84e ANNÉE. — IXe SÉRIE. T. VIII. Nos 1 à 3.

ANNALES

DES

SCIENCES NATURELLES

NEUVIÈME SÉRIE

BOTANIQUE

COMPRENANT

L'ANATOMIE, LA PHYSIOLOGIE ET LA CLASSIFICATION DES VÉGÉTAUX VIVANTS ET FOSSILES

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

M. PH. VAN TIEGHEM

TOME VIII. — Nos 1 à 3.

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain

1908

PARIS, 30 FR. — DÉPARTEMENTS ET ÉTRANGER, 32 FR.
Ce cahier a été publié en juillet 1908
Les *Annales des Sciences naturelles* paraissent par cahiers mensuels.

Digitized by Google

Conditions de la publication des Annales des Sciences naturelles

NEUVIÈME SÉRIE

BOTANIQUE

Publiée sous la direction de M. Ph. van Tieghem.

L'abonnement est fait pour 2 volumes, chacun d'environ 400 pages, avec les planches et les figures dans le texte correspondant aux mémoires.

Ces volumes paraissent en plusieurs fascicules dans l'intervalle d'une année.

Les tomes I à XX de la Huitième série et les tomes I à VII de la Neuvième série sont complets.

ZOOLOGIE

Publiée sous la direction de M. Edmond Perrier.

L'abonnement est fait pour 2 volumes, chacun d'environ 400 pages, avec les planches correspondant aux mémoires.

Ces volumes paraissent en plusieurs fascicules dans l'intervalle d'une année.

Les tomes I à XX de la Huitième série et les tomes I à VI de la Neuvième série sont complets.

Prix de l'abonnement à 2 volumes :

Paris : 30 francs. — Départements et Union postale : 32 francs.

ANNALES DES SCIENCES GÉOLOGIQUES

Dirigées, pour la partie géologique, par M. Hébert, et pour la partie paléontologique, par M. A. Milne-Edwards.

Tomes I à XXII (1879 à 1891). Chaque volume ..... 15 fr.

Cette publication est désormais confondue avec celle des *Annales des Sciences naturelles*.

Prix des collections.

Première série (Zoologie et Botanique réunies, 30 vol.		(*Rare*)
Deuxième série (1834-1843).	Chaque partie 20 vol.	250 fr.
Troisième série (1844-1853).	Chaque partie 20 vol.	250 fr.
Quatrième série (1854-1863).	Chaque partie 20 vol.	250 fr.
Cinquième série (1864-1874).	Chaque partie 20 vol.	250 fr.
Sixième série (1875 à 1884).	Chaque partie 20 vol.	250 fr.
Septième série (1885 à 1894)	Chaque partie 20 vol.	300 fr.
Géologie, 22 volumes.		330 fr.

Digitized by Google

CONTRIBUTION

A

L'ÉTUDE DES MORTIÉRELLÉES

Par M. J. DAUPHIN

INTRODUCTION

La biologie des champignons est à l'heure actuelle un vaste champ ouvert à l'investigation de tous les chercheurs. Les devanciers n'ont rien laissé, ou presque rien, à glaner dans le domaine de la morphologie et de l'anatomie. Ils ont tout décrit, tout examiné, sinon en fait, du moins par la pensée. C'est surtout dans le domaine de la physiologie et de la biologie que le chercheur de l'avenir pourra espérer trouver des faits nouveaux qui, en s'accumulant peu à peu, finiront par nous éclairer sur le mode d'existence et le développement de nombreux êtres vivants qu'on ne soupçonnait guère il y a cinquante ans.

Aujourd'hui, on a une tendance trop facile à émettre des hypothèses scientifiques. On observe un fait et, l'imagination aidant, on part de ce fait pour échafauder tout un système (qu'on érigerait pour un peu en une loi absolue), concernant la vie et le développement d'organismes dont l'existence se peut à peine déceler, même à l'aide des instruments les plus perfectionnés. J'ai cherché, j'ai observé quelques faits. Je les apporte ici, très modestement, comme une faible contribution à l'édifice considérable de la biologie des Mucorinées.

La lecture attentive de quelques mémoires originaux et non des moins connus dans la science, m'a montré que nous ne

Digitized by Google

savons pas grand'chose de la vie des êtres inférieurs. Tant de facteurs interviennent dans leur développement, qu'il est juste de dire, malgré tous les faits accumulés, que nous ignorons, en somme, presque complètement la biologie des champignons.

J'avais d'abord l'intention d'étendre mes recherches à la physiologie des Mucorinées en général, mais je me suis aperçu bien vite que le sujet était beaucoup trop vaste et qu'il était préférable de restreindre le champ de mes expériences à une seule espèce ; j'ai choisi le *Mortierella polycephala* parce que les champignons de ce groupe sont peu connus, mais il faut reconnaître que leur étude offre des difficultés pratiques qu'on ne rencontre pas chez les autres Mucorinées.

Dans le travail qui va suivre, je commencerai par faire un résumé très court de l'historique des travaux concernant les Mucorinées; j'étudierai ensuite la systématique du groupe des Mortiérellées (1), puis j'aborderai la description et la physiologie du *Mortierella polycephala*.

J'exprimerai tout d'abord ma reconnaissance à M. le professeur Matruchot qui, dans ses leçons à la Sorbonne en 1900, m'a initié aux études si intéressantes de la Cryptogamie et qui n'a cessé depuis ce temps, et chaque fois que l'occasion s'en présentait, de m'aider de ses conseils et de son expérience.

J'adresserai aussi tous mes remerciements à M. le professeur Gaston Bonnier, membre de l'Institut, qui a bien voulu, depuis longtemps, m'ouvrir les portes de son laboratoire et à M. Henri Fischer, maître de conférences adjoint de zoologie à la Faculté des Sciences, qui m'a donné toutes facilités pour mener à bien ce travail.

Je n'oublierai pas M. le professeur Curie, si tôt enlevé à la science et dont l'accueil fut toujours encourageant pour ceux qui ont pu le voir et profiter de ses conseils.

Ce travail, commencé au laboratoire de Botanique de la Sorbonne, a été terminé au laboratoire du P. C. N.

(1) Je laisserai de côté, dans cette étude, le genre *Herpocladium* Schrœter, et je ne m'occuperai que du genre Mortierella le plus important de la famille des Mortiérellées.

Digitized by Google

I

HISTORIQUE

Les travaux qui traitent des Mucorinées sont très nombreux, et s'il fallait citer tous les ouvrages parus depuis un demi-siècle sur cette question, la liste en serait longue et peut-être fastidieuse. J'essaierai d'en donner un court aperçu, en m'en tenant, autant que possible, au point de vue physiologique et morphologique.

Avant la publication des travaux de MM. Van Tieghem et Le Monnier, en 1873, l'étude des Mucorinées est à l'état rudimentaire; on pourrait même dire qu'elle est un peu fantaisiste, tant il s'est introduit d'erreurs dans la façon de considérer les champignons inférieurs, de les caractériser et d'en déterminer les affinités. On admet avec Carnoy et Klein [1] *, un polymorphisme qui ramène à une seule et même origine des types aujourd'hui reconnus comme bien différents. MM. Van Tieghem et Le Monnier [5] s'élèvent avec juste raison contre un polymorphisme exagéré qui tend à réunir sous une même espèce un *Mucor racemosus* et un *Botrytis*, un *Pilobolus* et un *Mucor* et surtout à prétendre à la transformation de ces champignons l'un dans l'autre.

De Bary et Woronine avaient bien, quelques années auparavant, préconisé l'usage des cultures pures, mais ils se contentaient de cultiver sur porte-objet découvert, de sorte qu'ils ne donnaient pas à la méthode toute la rigueur qu'elle doit comporter et c'est ainsi qu'ils en arrivaient à confondre *Mucor Mucedo*, *Mucor bifidus*, *Mucor racemosus*, *Thamnidium elegans*, et *Chætocladium Jonesii* [4].

Les recherches de Brefeld, en 1872, celles de Van Tieghem et Le Monnier en 1873, 1875 et 1876, en même temps qu'elles introduisaient dans la Science une méthode de recherches des plus rigoureuses et des plus précises, remettaient bien des choses au point.

* Les chiffres entre crochets renvoient à l'index bibliographique.

Digitized by Google

Brefeld, en 1872, montre l'indépendance des deux genres *Mucor* et *Chætocladium*; MM. Van Tieghem et Le Monnier [5] [6] [7] en suivant depuis la spore le développement de nombreuses espèces, font connaître des types nouveaux et bien caractérisés, et donnent des détails intéressants sur la biologie des Mucorinées. Ils observent les mouvements du protoplasma, la cicatrisation facile des blessures, la formation des cloisons et la production des cristalloïdes de mucorine. Parmi de nombreuses espèces de Mucorinées, ces auteurs décrivent dix espèces nouvelles de *Mortierella* et en établissent la classification. Ils décrivent les différents organes reproducteurs qu'on rencontre dans cette tribu, les stylospores échinées, les chlamydospores, les sporanges et les zygospores dont ils observent la formation chez le *Mortierella nigrescens*. Ils attribuent surtout à l'appauvrissement en oxygène et au ralentissement qui en résulte dans la combustion respiratoire, l'apparition des zygospores et des azygospores. « La plante forme tout d'abord, dans un milieu très nutritif, des chlamydospores; lorsque la pression de l'oxygène dans l'atmosphère arrive à descendre au-dessous d'une certaine valeur, la plante, supposée encore abondamment pourvue de protoplasma, ne peut plus former de sporanges; elle consacre alors tout son protoplasma à produire des zygospores ou des azygospores; *elle se conserve* » [7] (p. 323).

Brefeld, à peu près à la même époque, détermine une nouvelle espèce de *Mortierella*, *Mortierella Rostafinskii* [40] et en décrit la zygospore; mais il n'observe pas les stylospores échinulées que M. Van Tieghem considère comme caractéristiques des Mortiérellées.

M. G. Bainier, en 1883 [10], décrit quelques espèces nouvelles de Mucorinées et, la même année, publie quelques remarques concernant la formation des zygospores. M. G. Bainier déduit de ses expériences que la nature du substratum a beaucoup d'importance sur la production des zygospores : « Il ne suffit pas que la nourriture soit convenable, il faut qu'elle soit disposée convenablement; il faut que le thalle puisse s'étendre soit en largeur, soit en profondeur lorsque les zygospores se forment dans la masse du substratum. L'excès d'humidité empêche la formation des zygospores; la tempéra-

Digitized by Google

ture et l'absence de parasites ont aussi une influence » [12], (p. 345 et suiv.).

M. Vuillemin, en 1887, publie une étude biologique intéressante sur les champignons et décrit plusieurs espèces nouvelles de Mucorinées [13]. Il étudie en détail la formation des appareils reproducteurs et en particulier cellle des zygospores ; pour *Mucor heterogamus*, il admet que la différence des deux branches copulatrices est le résultat d'une différence d'alimentation et par suite un simple phénomène végétatif et non pas une différence sexuelle. « Le filament qui porte les branches copulatrices de la zygospore est l'homologue du support du sporange ; la cloison qui isole le gamète est l'homologue de la columelle et les gamètes eux-mêmes ont la même origine et la même valeur morphologique que les sporanges. Les gamètes quoique inégaux, ne présentent pas de différence sexuelle. »

En 1891, M. Alfred de Wèwre [14] étudie les Mucorinées au point de vue histologique.

M. Dangeard, puis M. Léger [15] à [18], dans une série de notes parues dans le *Botaniste* de 1894 à 1898, ou dans les Comptes Rendus de l'Académie, donnent des renseignements intéressants sur la structure histologique des Mucorinées et de leur noyau, sur les variations qu'elle présente, sur la distribution des noyaux dans le thalle, le sporange et les spores. Ils constatent que les renflements qui doivent se fusionner pour former les zygospores contiennent de nombreux noyaux.

M. Dangeard, de son côté, étudie plus spécialement dans le *Botaniste* [15] l'influence du mode de nutrition dans l'évolution de la plante et arrive à *cette conclusion que la reproduction sexuelle n'est qu'une modification de l'autophagie primitive.*

M. Matruchot [21], en 1899, décrit une structure particulière du protoplasma chez *Mortierella reticulata*. Il étudie l'action des pigments bactériens en nature sur le protoplasma des organismes vivants, et il préconise une méthode de coloration qui lui a très bien réussi. Il obtient de très bonnes colorations du contenu cellulaire de *Mortierella* par le pigment d'organismes chromogènes, tels que *Bacillus violaceus*, *Bacterium violaceum* et *Fusarium polymorphum*.

Dans un ouvrage remarquable et fort bien documenté,

Digitized by Google

Klebs, en 1896 et 1898 [23], étudie la morphologie et la physiologie d'*Eurotium repens*, de *Mucor racemosus* et de *Sporodinia grandis*. Il recherche l'influence de l'humidité et de l'oxygène, de la température et de la lumière, de la nourriture sur la formation des spores et des zygospores. Comme j'aurai plusieurs fois à citer cet auteur dans la suite de ce travail, je ne m'étendrai pas plus longuement sur ses travaux bien connus.

Alfred Lendner, en 1897 [25], étudie l'influence combinée de la lumière et du substratum sur le développement des champignons. Les résultats qu'il donne sont très variables. Sur un substratum solide, toutes les Mucorinées mises en expérience ont développé partout des sporanges ; une différence s'est fait sentir seulement dans la longueur des filaments sporangifères qui peuvent être plus du double plus longs dans l'obscurité, la lumière rouge et la lumière jaune. Dans les milieux liquides, l'influence de la lumière varie selon l'espèce. Lendner considère que la cause déterminant l'apparition des sporanges réside plutôt dans un phénomène de nutrition. L'action des rayons lumineux est secondaire, quoique manifeste pour certaines espèces et variable suivant les milieux.

Bien avant Lendner, Fries, de Bary, Brefeld, Klein, Bachmann avaient étudié l'action de la lumière sur les champignons et indiquaient des résultats sensiblement différents suivant les auteurs.

Hans Bachmann, en 1900 [45], décrit une nouvelle espèce de *Mortierella*, le *Mortierella Van Tieghemi*, et en fait une étude biologique approfondie, mais il est possible que tous les résultats qu'il indique sur la physiologie de ce champignon ne soient pas absolus, car toutes ses cultures ne sont pas faites en milieux stérilisés, et l'auteur lui-même ajoute, que le manque d'appareil de stérilisation à tension de vapeur, l'oblige à rechercher l'action des bactéries sur le *Mortierella Van Tieghemi*.

En 1903, M. Matruchot décrit *Cunninghamella africana* et montre que c'est là une Mucorinée végétant uniquement sous forme conidienne [46].

Enfin, plus récemment, dans une série de notes publiées de

Digitized by Google

1904 à 1907, M. Francis Blakeslee [30] à [33] étudie les Mucorinées plus spécialement au point de vue de la reproduction sexuelle.

Il établit que la production des zygospores chez les Mucorinées dépend avant tout de la nature particulière de chaque espèce et ensuite, secondairement, des facteurs extérieurs.

En considérant le mode de formation des zygospores des Mucorinées, il les divise en deux groupes principaux qu'il désigne respectivement sous les noms de *Homothalliques* et *Hétérothalliques*.

Dans le groupe des Homothalliques, comprenant la minorité des espèces, les zygospores se développent aux dépens de filaments du même thalle ou du même mycélium et elles peuvent être obtenues en partant de la germination d'une seule spore.

Dans le groupe des Hétérothalliques, comprenant probablement la grande majorité des espèces, les zygospores se développent aux dépens de filaments issus de thalles ou de mycélium différents et ne peuvent jamais être obtenues par germination d'une seule spore.

Les filaments sexuels d'une même espèce présentent en général une différence plus ou moins marquée dans la puissance de leur développement, différence que l'auteur indique conventionnellement par le signe + ou le signe —.

Dans les espèces hétérothalliques, on trouve des filaments qui ne peuvent réagir avec les filaments + ou — de la même espèce ; ce sont les filaments *neutres*.

Digitized by Google

II

ÉTUDE SYSTÉMATIQUE DE LA FAMILLE DES MORTIÉRELLÉES

Vingt-sept espèces différentes se rattachent au genre *Mortierella* ; une espèce, qui n'est peut-être pas un *Mortierella*, mais plutôt un *Hydrophora*, a été décrite par Bonorden sous le nom de *Mortierella umbellata* ; Fischer la considère comme un *Hydrophora*.

Le genre *Mortierella* a été créé, en 1863, par le botaniste belge Coëmans, qui lui a donné ce nom en l'honneur de M. B. du Mortier, président de la Société Botanique et Membre de l'Académie Royale de Belgique.

Coëmans a découvert le champignon nouveau, vivant en parasite sur les grands champignons en voie de décomposition, où il forme un duvet blanc, laineux, très fin et très délicat. Il disparaît promptement dans les herbiers.

« Au microscope, il se montre formé d'un système radicellaire peu remarquable, de filaments mucoréens rampants, non cloisonnés, très longs et peu rameux, enfin de cellules fructifères dressées, très nombreuses et disposées ordinairement sur des gonflements gibbeux de la tige.

« Les cellules fructifères sont comparativement courtes (1/4 à 1/5 de mm.), renflées vers le milieu et effilées vers la pointe que termine un assez gros sporange. Sous celui-ci s'en trouvent d'autres (2 à 9) d'ordinaire plus petits portés sur de courts pédicelles et disposés en faux verticilles, irrégulièrement espacés.

« Les sporanges sont incolores, oligospores (4 à 20), dépourvus de sporophore intérieure, et renfermant des spores incolores, ovales ou arrondies dont le contenu est homogène ou présente parfois un nucléus central. Quant à la dimension des spores, elle est trop variable pour qu'on puisse s'en servir comme caractère ; elle est ordinairement proportionnelle au volume du sporange et varie souvent dans un même réceptacle. Les spores se forment par voie de génération libre comme dans les Mucorinées.

« Le développement des cellules fructifères n'offre rien de très remarquable. Après s'être dessinée comme un mamelon conique ou arrondi, la cellule fructifère s'élève sous forme de stolon opaque et obtus, dont le sommet s'étrangle et devient un premier sporange, le sporange terminal. Le pédicule de celui-ci, sensiblement plus mince que le reste de la cellule, s'allonge, ensuite et émet sur le côté quelques légères saillies qui grandissent et deviennent à leur tour des pédicelles portant les sporanges latéraux. Chaque sporange est séparé de son pédicelle par une petite cloison, la seule qu'offre la plante. Après quatre ou cinq jours, la paroi sporangienne se rompt et tombe avec les spores, tandis que le tronc de la cellule fructifère subsiste encore un couple de jours avant de s'affaisser définitivement. »

Digitized by Google

Cette étude, quoique incomplète, permet cependant à Coëmans de définir les caractères du *Mortierella* n. g. et de le placer à côté des *Mucor* à cause de la nature de ses membranes, de la forme des sporanges, de son port et de tous ses autres caractères ; et il le définit de la façon suivante :

Mortierella n. g. Coëmans.

Mycélium de Mucorinées, parasite sur divers champignons,

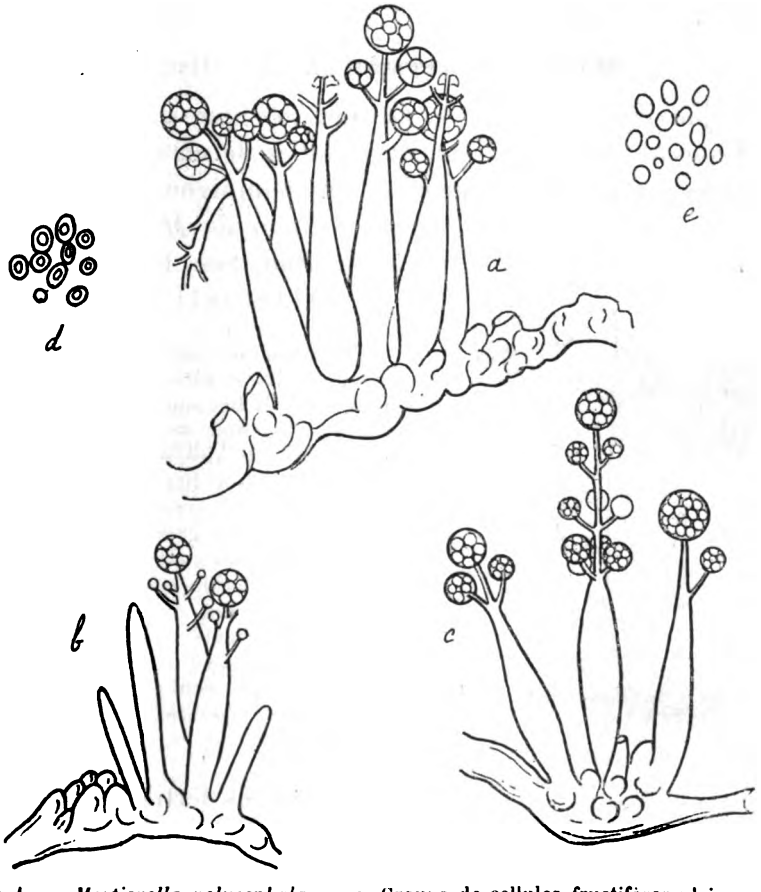


Fig. 1. — *Mortierella polycephala.* — *a*, Groupe de cellules fructifères pleinement développées, gr. 110; *b*, Jeunes cellules fructifères au moment de la formation des sporanges, gr. 110; *c*, Groupe de cellules fructifères offrant les variations extrêmes pour le nombre des sporanges (110); *d*, Spores ordinaires (220); *e*, Spores nucléées (220). Reproduit d'après Coëmans (Bulletin de l'Ac. Royale des Sciences, des lettres et beaux-arts de Belgique, 22e année, 2e série, t. XV, 1863).

superficiel en grande partie, étalé, incolore. Cellules fructifères dressées, renflées, ramifiées, à plusieurs têtes. Sporanges oli-

Digitized by Google

gospores, dépourvus de columelles ou de néosporanges. Spores de mucorinées.

Le **Mortierella polycephala** que Coëmans étudie pour la première fois est caractérisé comme il suit :

« Hyphes rampants, *incolores*, très longs, peu enchevêtrés, parfois renflés ; cellules fructifères courtes, très nombreuses, groupées en faisceaux, atténuées à la partie supérieure, ramifiées ; rameaux courts, étalés, terminés par un sporange arrondi ; sporanges *incolores*, à demi transparents, 4-20 spores lisses ; spores ovales ou arrondies.

HABITAT : sur *Polyporus et Dædalea* (fig. 1).

Mortierella crystallina (C. O. Harz).

En janvier 1871, le Dr C. O. Harz découvre sur des feuilles de *Trametes suaveolens*, sur des feuilles de chêne et de hêtre habitées par plusieurs Mucorées, un champignon qu'il désigne sous le nom de *Mortierella crystallina* (Bull. Soc. Imp. Nat. Moscou, t. XLIV, 1871).

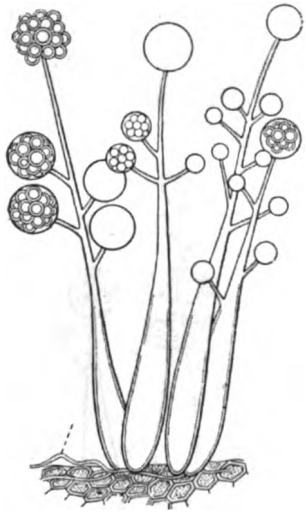


Fig. 2. — *Mortierella crystallina*, gr. 230. Reproduit d'après le Dr C. O. Harz (Einige neue Hyphomyceten, Bulletin de la Soc. des Natur. de Moscou, 2e série, 1871).

« Le mycélium manque ; les hyphes poussent droits, renflés à la base, resserrés à la moitié de la hauteur jusqu'à la pointe, ramifiés. A la pointe de l'hyphe muni de 4 à 7 branches latérales, se trouve un « péridiole » avec 15 à 100 conidies ou plus. Ces « péridioles » arrondis, blancs incolores, ou munis de gros noyaux, ont une épaisse membrane externe. Tous sont arrondis et de taille assez semblable. Le développement des sphères conidiennes est centrifuge, mais celles qui sont à la pointe des hyphes se développent plus tôt que celles qui poussent plus en bas et latéralement. Le « péridiole » lui-même est très passager »...

Les hyphes fertiles sont transparents comme du verre et le champignon vit en parasite sur le mycélium de différentes Mucorées qui se dessèchent peu à peu (fig. 2).

Mortierella echinulata (C. O. Harz).

A côté de cette espèce, Harz décrit le *Mortierella echinulata* qu'il a découvert vivant en parasite sur le mycélium de diffé-

Digitized by Google

rentes Mucorées, en particulier sur le *Mucor stercoreus*, qui, envahi par ce champignon, meurt lentement.

Par l'aspect, la taille et les ramifications des hyphes, il est très semblable au précédent. Les hyphes sont remplis de protoplasma semblable à une émulsion presque incolore, à peine teinté de gris. Les hyphes sont quelquefois ramifiés en fourches, à la base. Les sphères conidiennes ont à peu près la même grosseur, mais ne renferment que 4, 6 ou 7 conidies; mais par suite de leur petit nombre, elles sont beaucoup plus grosses que chez *M. crystallina*, arrondies ou presque, avec une membrane externe épaisse, présentant en dehors de fines aiguilles (fig. 3).

Fig. 3. — *Mortierella echinulata*, gr. 230. D'après le Dr C. O. Harz (Bull. de la Soc. des Natur. de Moscou, 2e série, 1871).

Comme on le voit par les descriptions qui précèdent, les auteurs qui ont décrit les espèces *M. polycephala*, *crystallina*, *echinulata*, n'en ont pas suivi le développement ni fait une étude bien approfondie; ils ont ignoré ou ils n'ont pas su voir le mycélium et encore moins les différents organes fructifères; et si l'on se reporte à la description que donne Harz, on est fortement tenté de rapprocher du *M. polycephala* de Coëmans, les deux espèces dont il donne des dessins. Il est vrai que Harz lui-même a soin d'ajouter que *M. crystallina* diffère de *M. polycephala* par les conidies toutes égales, mais ce n'est pas là un caractère spécifique, d'après Coëmans lui-même. Il nous semble donc rationnel sinon d'identifier *M. crystallina* et *M. polycephala*, tout au moins de les considérer comme deux formes très voisines.

M. echinulata resterait donc comme seule nouvelle espèce de *Mortierella* caractérisée par ses spores finement échinulées de 12 à 15 μ de diamètre, arrondies ou ovales.

A l'époque où Harz signalait ces deux espèces nouvelles de *Mortierella*, MM. Van Tieghem et Le Monnier n'avaient pas encore publié leurs mémoires sur les Mucorinées et la plupart des mycologues ignoraient, ou, en tous cas, ne pratiquaient guère la méthode des cultures pures ainsi que celle des cultures en

Digitized by Google

cellule qui permet de suivre le développement d'un champignon pendant toute son existence. Ces deux savants ont pu, d'après ces méthodes, étudier non seulement le *Mortierella polycephala*, mais encore dix espèces nouvelles : *M. reticulata*, *M. simplex*, *M. candelabrum* (*Ann. des Sc. nat.*, 1873) ; *M. tuberosa*, *M. pilulifera*, *M. strangulata*, *M. biramosa* (*Ann. des Sc. nat.*, 1875) ; *M. nigrescens*, *M. minutissima*, *M. fusispora* (*Ann. des Sc. nat.*, 1876). Depuis cette époque, d'autres auteurs ont décrit de nouvelles espèces.

Je donnerai rapidement ici la caractéristique de chacune d'elles en les accompagnant de figures reproduites d'après les mémoires de ces auteurs. La description est tirée des mémoires originaux.

Mortierella polycephala (Coëmans).

Mycélium continu, ramifié dichotomiquement; tubes sporangifères dressés, souvent réunis en faisceaux, fusiformes, hauts de 250 μ, atténués à l'extrémité, ramifiés; rameaux courts, simples, disposés en grappes, quelquefois en faux verticilles, se terminant par un sporange un peu plus petit. Les sporanges

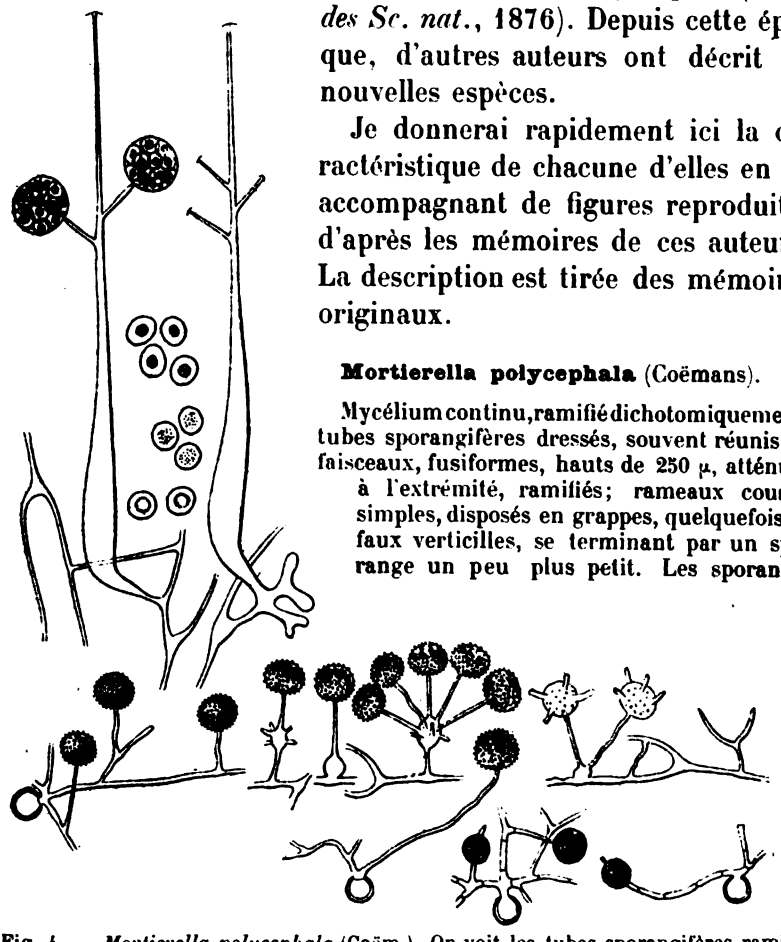


Fig. 4. — *Mortierella polycephala* (Coëm.). On voit les tubes sporangifères ramifiés avec quelques sporanges; le mycélium ramifié en dichotomie et les sporangiospores, gr. 220. En bas les stylospores, gr. 320, avec leurs différents modes d'insertion et les chlamydospores mycéliennes, gr. 320. D'après Van Tieghem et Le Monnier (Ann. des Sc. nat., Bot., 1873).

contiennent de 4-20 spores; ovales ou arrondis, de 10 à 12 μ de diamètre, hyalines. La cloison de séparation est plane.

Les stylospores ou chlamydospores aériennes, finement échinulées, sont

Digitized by Google

incolores, de 20 μ de diamètre, insérées sur de petits rameaux, seules ou par groupes.

Les chlamydospores aquatiques ou kystes ont environ 10 μ (fig. 4).

Mortierella reticulata (Van Tieghem et Le Monnier).

Filaments fructifères de 150 μ environ, moins effilés que dans *M. polycephala*. Spores au nombre de 2 à 8, souvent 4 dans un sporange; elles ont une membrane externe épaissie en un élégant réseau; leur dimension varie de 16 à 24 μ. — Sur le sporange terminal, quelques rameaux grêles terminés par des sporanges semblables; ces rameaux sont très courts, et au lieu de se

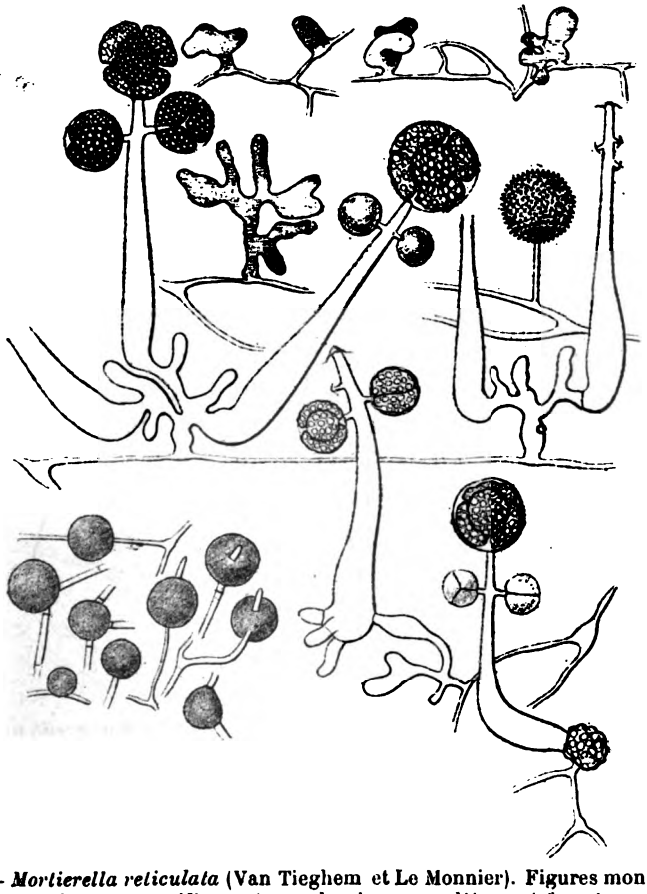


Fig. 5. — *Mortierella reticulata* (Van Tieghem et Le Monnier). Figures montrant les débuts des tubes sporangifères et ces derniers complètement formés, avec leurs sporanges, gr. 250; stylospores, gr. 400; chlamydospores, gr. 300. (D'après Van Tieghem et Le Monnier (Ann. des Sc. nat., Bot., 1873).

relever obliquement vers le haut, ils sont ou horizontaux ou rabattus vers le bas.

Les chlamydospores aériennes sont arrondies, fortement échinulées, portées à l'extrémité de tiges longues, non ramifiées; leur diamètre est de 25 μ.

Digitized by Google

Mortierella reticulata (var. nov. Matruchot).

Thalle de *Mortierella*. Appareil sporangifère atteignant 250 μ; parfois 350 μ de hauteur. Branches sporangifères latérales *nombreuses*, souvent *elles-mêmes ramifiées*. Chlamydospores aquatiques de 10-15 μ plus petites que dans l'espèce type. Le réseau exosporique des sporangiospores est plus délicat, à trame plus mince et à mailles plus nombreuses que dans l'espèce type précédente (fig. 6)

Mortierella simplex (Van Tieghem et Le Monnier).

Dans cette espèce, les tubes sporangifères, sont dressés, simples ; ils peuvent atteindre une hauteur de 0mm,7 à 1 millimètre ; et sous le sporange, ils conservent encore une assez grande largeur; larges de 60 à 70 μ à la base, ils ont

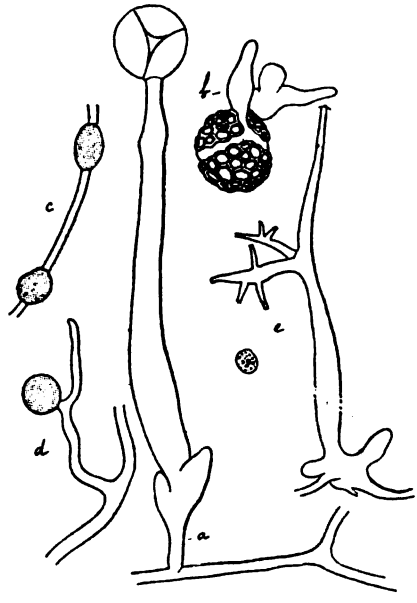


Fig. 6. — *Mortierella reticulata* (var. nov. Matruchot). — *a*, Mycélium aérien, montrant la ramification en diapason et portant un pied sporangifère; à la base, on voit l'amorce de deux sporanges latéraux, g. 945; *b*, Spore gonflée commençant à germer, gr. 840; *c* et *d*, Mycélium immergé avec spores aquatiques, gr. 480 : *e*, Pied sporangifère ramifié au second degré, spore détachée, gr. 160. (Matruchot. Miscellanées biologiques dédiées au prof. Giard, Paris, 1900.)

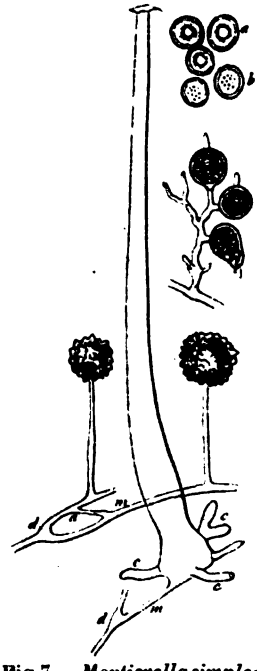


Fig. 7. — *Mortierella simplex* (Van Tieghem). Tube sporangifère, gr. 120; Spores, gr. 320; Stylospores, gr. 400; Chlamydospores, gr. 400 (D'après Van Tieghem et Le Monier, Ann. Sc. nat., Bot., 1873).

encore, près du sporange terminal, un diamètre d'environ 10 à 12 μ. Le gros sporange terminal renferme un grand nombre de spores à membrane lisse et hyaline, à protoplasma granuleux, pourvu souvent d'un gros noyau très réfringent, ordinairement sphériques ou ovales, et ayant 10 μ de diamètre ; leur forme et leurs dimensions peuvent être très irrégulières dans un même

Digitized by Google

sporange. Après la déhiscence, la membrane du sporange laisse souvent une petite cupule adhérente autour du bouton qui termine le tube.

Les stylospores sont pédicellées, à membrane épaisse échinulée, d'environ 16 μ de diamètre. Les chlamydospores aquatiques, plus ou moins arrondies, transparentes, remplies d'un protoplasma granuleux, qui parfois se divise en masses polyédriques, ont un diamètre d'environ 10 à 12 μ.

Habitat : *Sur du terreau humide* (fig. 7).

Mortierella candelabrum (Van Tieghem et Le Monnier).

Mycélium de *Mortierella* ; pieds sporangifères dressés, renflés à la base, d'abord simples, puis ramifiés ; les rameaux sont de même renflés à la base, d'abord disposés horizontalement, puis dressés eux-mêmes, et rétrécis vers l'extrémité. Le sporange terminal renferme beaucoup de petites spores

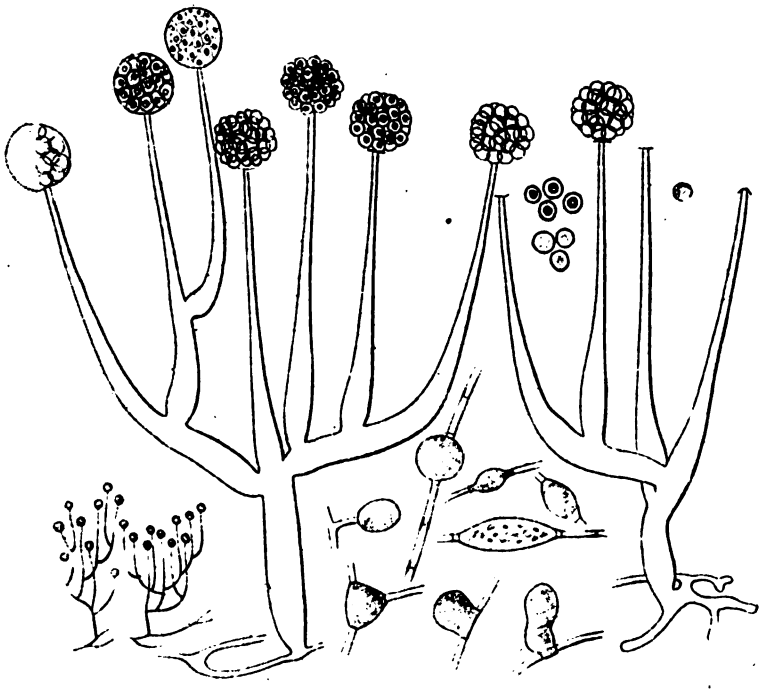


Fig. 8. — *Mortierella Candelabrum* (V. Tieghem et Le Monnier). Port général de la plante ; Tubes sporangifères et sporanges, gr. 120 ; Sporangiospores, gr. 320 ; Chlamydospores mycéliennes, gr. 250. (Van Tieghem et Le Monnier, Ann. des Sc. nat., Bot., 1873.)

arrondies, à paroi mince et lisse, fréquemment pourvues d'un noyau, atteignant de 6 à 4 μ de diamètre, mais pouvant aller jusqu'à 8 et 10 μ. L'ensemble constitue une sorte de candélabre à pied court, comportant une dizaine de branches courtes dépourvues des rameaux grêles des autres espèces, pouvant atteindre 2 millimètres de hauteur.

Habitat : *Trouvé à la périphérie d'un disque de plâtre contenant de la levure et aussi sur des excréments* (fig. 8).

Bainier (*Ann. des Sc. natur.*, *Bot.*, série XV, 1883) a décrit une

Digitized by Google

espèce, qui est probablement la même, mais où les spores sont

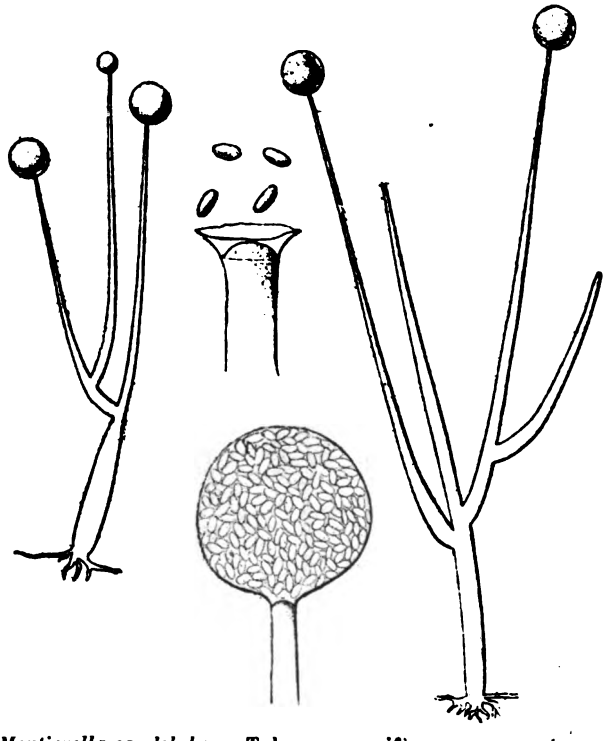


Fig. 9. — *Mortierella candelabrum*. Tubes sporangifères, sporange et sporangiospores (D'après Bainier. Ann. des Sc. nat., Bot., 1883).

petites, ovales, rarement rondes, et mesurent de 6 μ, 3 à 2 μ, 1. Il l'a trouvée sur des mouches mortes dans une culture de *Saprolegnia ferax*, puis sur des Agarics où elle paraît très commune (fig. 9).

Fig. 10. — *Mortierella candelabrum* (var. *minor*. Grove.) Tubes sporangifères et spores (D'après Grove, Journal of botany, 1885).

W. B. Grove B. A. (*Journal of Botany*, 1885), après avoir cité les mémoires des auteurs précédents, décrit ainsi *Mortierella candelabrum*, variété *minor* Grove :

Hyphes fertiles ramifiés depuis le commencement de la base avec de longues branches montantes subulées à la façon d'un candélabre. Spores parfaitement rondes, lisses, hyalines, 10 à 12 μ de diamètre. Hauteur de 1,3 à 1,5 millimètres.

Habitat : *Bois pourri*, Sulton (W. K.) ; septembre 1885 (fig. 10).

Digitized by Google

Mortierella diffluens, Sorokine 1874 (Arb. d. naturf. Ges. Kasan).

Sporanges portant de 15 à 18 spores à membrane très diffluente, spores de 9 à 10 μ, à parois épaisses (épispore), hyalines.

C'est toute la description qu'en donne Saccardo dans *Sylloge Fungorum*, vol. VII [1re partie (1)].

Mortierella tuberosa (Van Tieghem et Le Monnier).

Le tube sporangifère de cette espèce peut atteindre jusqu'à 3 centimètres de hauteur ; à la base, il est d'abord très grêle, puis brusquement renflé ; il s'échappe d'un amas de sphères pleines d'un protoplasma très sombre et qui se vident de dehors en dedans au fur et à mesure qu'il s'allonge. Plus grosses et plus rapprochées que dans *M. pilulifera*, ces sphères sont de véritables tubercules blancs, visibles à l'œil nu, et serrés côte à côte comme de petits œufs. — Le tube fructifère est d'abord rétréci, puis légèrement dilaté à partir de la base jusqu'au sommet.

La cloison basilaire du sporange est assez large, un peu convexe et surmontée d'un bouton brillant.

Les spores développées à l'intérieur du sporange, en même temps qu'une abondante matière mucilagineuse hyaline qui en occupe les interstices, sont un peu inégales et irrégulières de forme, en général allongées, ovoïdes de 11 à 16 μ de longueur sur 6 à 8 μ de largeur.

La membrane du sporange se rabat, à la maturité ; elle n'est pas complètement diffluente.

Les chlamydospores aériennes, légèrement pédicellées, ont une membrane épaisse, recouverte de courtes aspérités ; elles mesurent de 20 à 25 μ de diamètre.

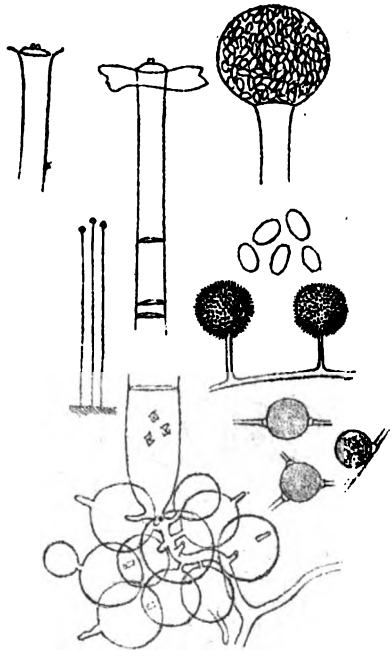


Fig. 11. — *Mortierella tuberosa*. Base et extrémités du tube sporangifère ; Sporanges ; Sporangiospores, gr. 330 ; Stylospores, gr. 330 ; Chlamydospores, gr. 330.

Les chlamydospores mycéliennes ont été obtenues en culture cellulaire.

Habitat : *Excréments de rat* (fig. 11).

(1) J'ai cherché le travail original dans toutes les bibliothèques de Paris, mais en vain. J'ai écrit à l'université de Kasan pour avoir une copie du mémoire cité, mais en vain ; et c'est en vain que je me suis adressé à M. Sorokine lui-même. Je n'ai pas eu de réponse dans ces deux derniers cas.

Digitized by Google

Mortierella pilulifera (Van Tieghem).

Le tube sporangifère est simple, mais au lieu d'être brusquement étranglé sous le sporange, il est progressivement évasé ; la cloison est assez large, un peu convexe vers le haut et souvent épaissie au centre en un bouton brillant. Hauteur : 5 millimètres.

Le sporange est assez petit, clair ; sa membrane se résorbe totalement à la maturité en ne laissant autour de la cloison qu'une petite collerette rabattue. Les spores sont ovales et ont de 7 à 9 μ de longueur sur 4 à 5 μ de largeur.

La branche rameuse, insérée sur le filament dichotome rampant, renfle ses

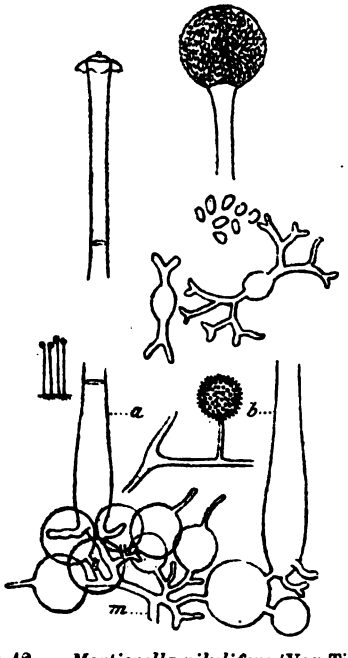


Fig. 12. — *Mortierella pilulifera* (Van Tieghem). Sporange, extrémité et base du tube sporangifère, gr. 90 ; Sporangiospores et début de germination, gr. 330 ; Stylospore, gr. 330. (D'après Van Tieghem, Ann. Sc. nat. Bot., 1875.)

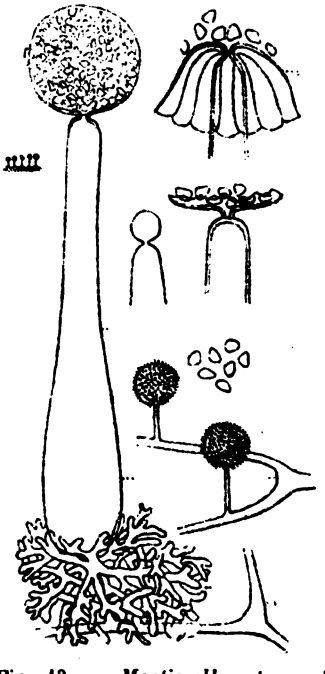


Fig. 13. — *Mortierella strangulata* (Van Tieghem). Tubes sporangifères avec les filaments ramifiés de la base ; sporange, gr. 90 ; deux collerettes de sporanges mûrs, gr. 90 ; Début de sporange, gr. 90 ; Sporangiospores, gr. 330 ; Stylospores, gr. 330. (D'après Van Tieghem, Ann. Sc. nat. Bot., 1875.)

rameaux en grosses sphères, soit à leur sommet, soit en un point quelconque de leur parcours. Toutes ces « pilules » remplies d'un protoplasma très sombre, et plus ou moins rapprochées, sont réunies entre elles par les branches et les portions de branches demeurées grêles. Un peu plus tard, un de ces rameaux grêles, qui peut terminer une de ces grosses sphères ou partir d'une des branches qui les relie, se dresse verticalement en se renflant beaucoup et forme le tube fructifère. Les stylospores sont arrondies, échinulées, portées à l'extrémité de rameaux simples ; elles ont un diamètre d'environ 15 μ.

Les chlamydospores aquatiques n'ont pas été décrites.

Habitat : *Excréments de lapin* (fig. 12).

Digitized by Google

Mortierella strangulata (Van Tieghem).

Mycélium ramifié en dichotomie (diapason), anastomosé, à parois épaisses. Les tubes sporangifères se dressent perpendiculairement à un amas de gros tubes très ramifiés, rapprochés et disposés dans des plans différents. Ils sont légèrement amincis au sommet (25 μ); leur hauteur varie de 0mm,8 à 1 millimètre; le tube sporangifère est brusquement étranglé (8 μ) au-dessous du sporange. Le sporange est sphérique et présente un diamètre de 80 à 120 μ. La membrane du sporange n'est pas diffluente dans sa moitié inférieure qui persiste en forme de large cupule soutenant à la fois les spores et la matière mucilagineuse qui s'est formée en même temps qu'elles. — Dans l'eau cette cupule se rabat souvent en forme de manchettes plissées.

Les spores sont incolores, parfaitement homogènes, sans exospore distincte; inégales et de forme irrégulière dans le même sporange, elles présentent souvent une forme triangulaire caractéristique; quelquefois, elles sont quadrangulaires, ou ovales, ou fusiformes. Dimensions : 6-9 μ.

Sur le mycélium se dressent des stylospores échinulées, sphériques, de 18 à 20 μ de diamètre, hérissées de fines pointes très rapprochées.

Habitat : *Excréments de rat* (fig. 13).

Mortierella biramosa (Van Tieghem).

Dans cette espèce, le tube sporangifère, au lieu d'être ramifié en grappe régressive comme dans *M. polycephala*, ou, comme dans *M. candelabrum*, en cyme unipare hélicoïde, rappelant vaguement la forme d'un candélabre, pré-

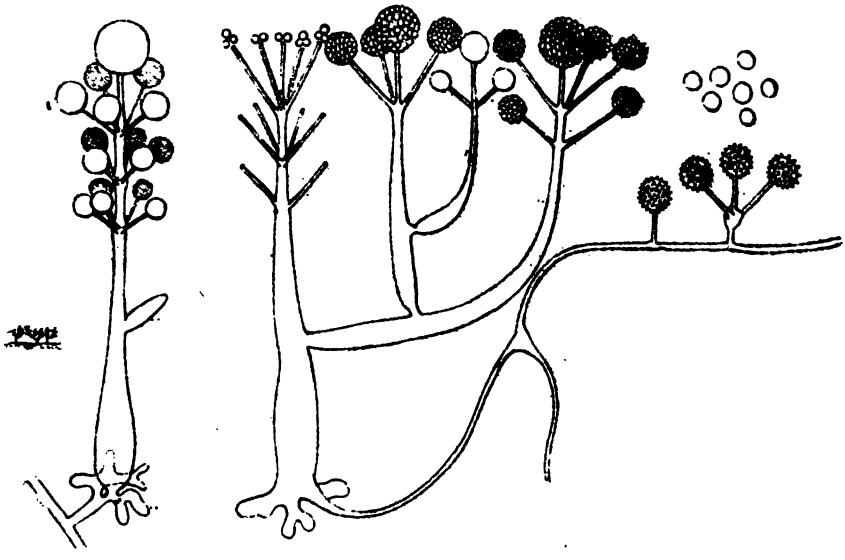


Fig. 14. — *Mortierella biramosa* (Van Tieghem). Tubes sporangifères et sporanges, gr. 90; Sporangiospores, gr. 330; Stylospores, gr. 420. (D'après Van Tieghem, Ann. des Sc. nat. Bot., 1875.)

sente à la fois les deux modes de ramification du *M. polycephala* et du *M. candelabrum*. Il y a en même temps de grosses branches en cymes unipares et sur chacune d'elles, comme sur le rameau principal, de petits rameaux verticillés en grappes. C'est, comme le dit l'auteur, une cyme unipare hélicoïde de grappes verticillées régressives.

Digitized by Google

Le tube sporangifère principal, très renflé à la base, s'appuie sur un certain nombre de courtes branches en doigts de gant, formées d'abord, qui le nourrissent, puis lui servent de crampons. — Il s'effile progressivement vers le haut, avant de se terminer par un sporange sphérique; il a une hauteur de 0mm,8 à 1 millimètre. La membrane du sporange sphérique se résorbe complètement à la maturité, laissant en place les spores agglutinées. Pendant le développement de ce tube principal, il naît en un point situé non loin du sommet, un, deux ou trois verticilles de rameaux portant des sporanges de plus en plus petits et inclinés d'environ 45° sur le rameau principal.

Puis à mi-hauteur de ce tube, il naît une grosse branche d'abord horizontale, qui se redresse bientôt vers le haut et se termine en se rétrécissant par un verticille de rameaux semblables, quelquefois deux. A son tour, cette branche secondaire peut, à mi-longueur et du côté de la tige principale, donner de même une nouvelle branche sporangifère terminée par un seul verticille et ainsi de suite. Il peut y avoir 4 ou 5 branches insérées en cyme unipare hélicoïde, mais ce nombre peut être plus réduit.

Les spores inégales sont sphériques et leur diamètre, variant de 6 à 9 μ, va le plus souvent jusqu'à 75 μ.

Les stylospores sphériques ont de 9 à 10 μ de diamètre.

Habitat : *Excréments de rat* (fig. 14).

Mortierella nigrescens (Van Tieghem).

Mycélium puissant, aérien, d'un blanc laineux sur l'agaric. Tubes sporangifères dressés, ramifiés dichotomiquement en forme de diapason, sans cloisons comme dans toutes les autres espèces. Tubes mycéliens de 10 à 12 μ d'épaisseur. Rameaux principaux donnant des pinceaux de ramuscules grêles et allongés,

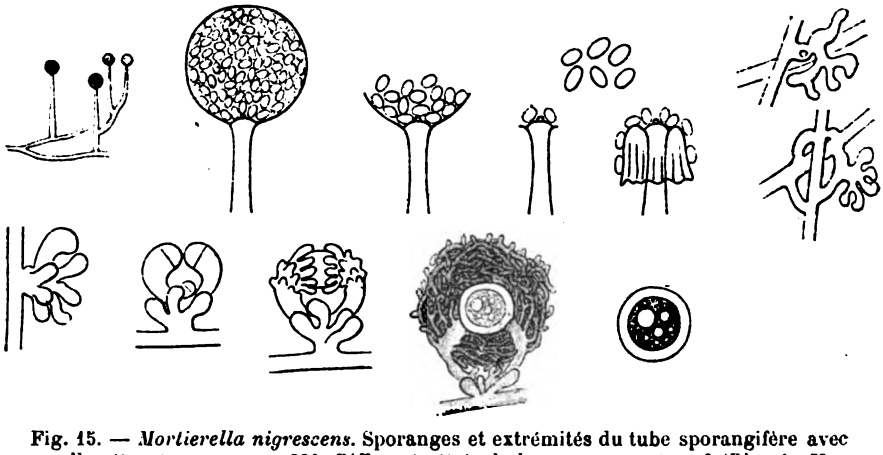


Fig. 15. — *Mortierella nigrescens.* Sporanges et extrémités du tube sporangifère avec collerette et spores, gr. 330. Différents états de la zygospore et œuf. (D'après Van Tieghem, Ann. des Sc. nat. Bot., 1876.)

pénétrant en suçoirs, dans le tissu nourricier. Le protoplasma des tubes mycéliens disparaît de bonne heure et, en même temps, la membrane se cuticularise, s'épaissit, se colore en jaune, puis en brun de plus en plus foncé et alors il y apparaît des cloisons à l'intérieur.

Tubes sporangifères de 1 millimètre à 1mm,5 de hauteur; renflés à la base, ils sont légèrement atténués vers le haut où se trouve une cloison légèrement

Digitized by Google

bombée qui les sépare du sporange terminal. Ramifications du tube sporangifère rappelant celles de *Mortierella candelabrum*.

Spores cylindriques, arrondies aux deux bouts, parfois uniformes de 3 à 4 μ de large sur 6 à 8 μ de long.

Les chlamydospores mycéliennes, les stylospores aériennes n'ont pas été rencontrées. Les sporanges sont rares.

Zygospores de 0mm,1 à 0mm,125 entourées d'une envelopppe de plusieurs branches ramifiées, vides de protoplasma, à membrane brune, cuticularisée et rigide.

Habitat : *Parasite sur Agarics, Bolets, Lycoperdon, Truffe* (fig. 15).

Mortierella fusispora (Van Tieghem).

Mycélium rampant et fugace, très étendu.

Stylospores isolées, parfaitement sphériques, à membrane épaisse, munies de tubercules relativement gros, de 12 μ de diamètre, environ.

Tubes sporangifères toujours simples ne dépassant pas 0mm,5 de hauteur. Sporange relativement gros, renfermant des spores caractéristiques, ovales, très allongées, de 5 à 6 μ de large sur 22 à 24 μ de long.

Habitat : *Excréments de lapin* (fig. 16).

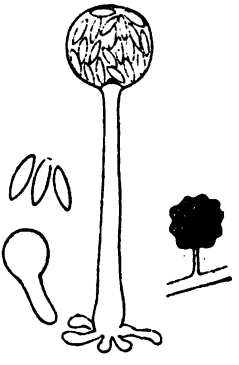


Fig. 16. — *Mortierella fusispora*. Tube sporangifère, sporange, spores et stylospore. (D'après Van Tieghem, Ann. Sc. nat., 1876.)

Mortierella minutissima (Van Tieghem).

Les tubes sporangifères ne dépassent pas 0mm,1 de hauteur; ils sont très grêles; ils naissent directement sans appendices en cæcum.

Le sporange ne contient qu'un petit nombre de spores sphériques ou irrégulières à membrane lisse de 8 à 10 μ de diamètre.

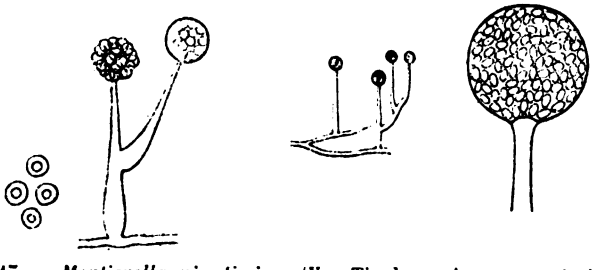


Fig. 17. — *Mortierella minutissima*. (Van Tieghem, Ann. sc. nat., 1876.)

Tube sporangifère ramifié comme dans *M. candelabrum*. Stylospores non observées.

Habitat : *Sur un Dædalea* (fig. 17).

Mortierella Rostafinskii (O. Brefeld).

Filaments mycéliens étroits, grêles à contenu fin, granuleux et brillant, non cloisonné, ressemblant à celui de *Chætocladium*.

Appareil fructifère s'élevant d'un épais faisceau de filaments d'où s'échappe le tube sporangifère d'abord étranglé à la base, puis renflé et diminuant graduel-

Digitized by Google

lement de largeur jusqu'au sporange. Les rhizoïdes sont si nombreux qu'ils forment presque un véritable tissu s'élevant jusqu'à mi-hauteur du tube sporangifère. Ce dernier présente au point où s'attache le sporange, un étranglement dont le diamètre est près de la moitié de celui du tube au même endroit. L'épaisseur de la membrane du sporange est légèrement accentuée à la base et non diffluente en cet endroit où elle se rabat en collerette.

Spores de forme irrégulière, ovales, d'aspect réfringent, dont le diamètre est en longueur 6 μ et en largeur 5 μ. Elles sont très nombreuses.

Les stylospores n'ont pas été observées.

Les kystes ont été décrits.

Les zygospores ont été observées et décrites. Elles ont de 0mm,1 à 0mm,2 de

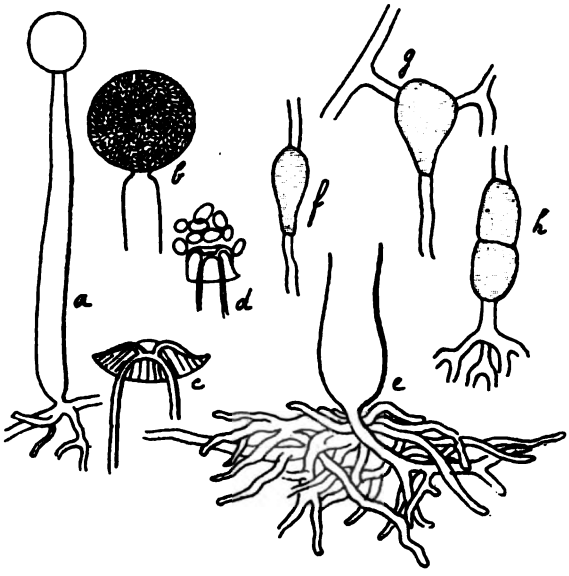


Fig. 18. — *Mortierella Rostafinskii* (O. Brefeld). — *a*, Tube sporangifère, gr. 100; *b*, Sporange, gr. 100; *c*, *d*, Extrémités du sporange mûr avec collerette rabattue, gr. 305; *e*, Base du tube sporangifère avec rhizoïdes, gr. 100; *f*, *g*, *h*, Chlamydospores ou kystes, gr. 300. (D'après O. Brefeld, Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, IV Heft, 1881.)

diamètre environ, la membrane est lisse; elles contiennent beaucoup de globules graisseux. Lorsque la zygospore est entourée de sa capsule (carpospore) elle peut atteindre 1 millimètre et plus.

Habitat : *Fumier de cheval* (fig. 18).

Mortierella arachnoides et **M. ficariæ** (Therry et Thierry).

Ces deux champignons ont été découverts sous forme de filaments mycéliens qui envahissaient les bâches à bouture des jardiniers fleuristes de la région lyonnaise et compromettaient singulièrement cette opération essentielle de l'industrie horticole. Les auteurs en ont découvert les fructifications et ont cru pouvoir ajouter avec certitude deux espèces nouvelles au genre *Mortierella*.

Digitized by Google

Voici comment ils donnent la diagnose de ces nouvelles espèces.

Mortierella arachnoides Th. et Th. (Araignée des serres).

Mycélium : filaments régulièrement cylindriques, aériens, rampants, aranéeux, blanc brillant dans la jeunesse, brun terne ou orangé (Sienne brûlée) dans la vieillesse, irrégulièrement rameux (dichotomie non en diapason) septés, anastomosés, persistants, robustes, à végétation indéfinie, entremêlés, non feutrés. — Chlamydospores et stylospores inconnues ; *tubes sporangifères cylindriques monosporangiens* ? Quoique ayant suivi pendant toute une année la végétation de cette plante, nous ne pouvons caractériser avec certitude que son système végétatif, nos recherches ne nous ayant fourni qu'un seul sporange sur un tube brisé, ce qui n'est pas suffisant ; car ce sporange pouvait tout aussi bien appartenir à une tout autre espèce qu'à celle-ci.

Habite dans les serres chaudes ; sur toute espèce de boutures. Végète aussi bien sur la terre et sur le sable mouillé.

Mortierella ficariæ Th. et Th.

Mycélium aérien rampant, aranéeux, laineux, blanc terne, blanc ou blanc argenté, à végétation indéfinie, filaments entremêlés, non feutrés, irrégulière-

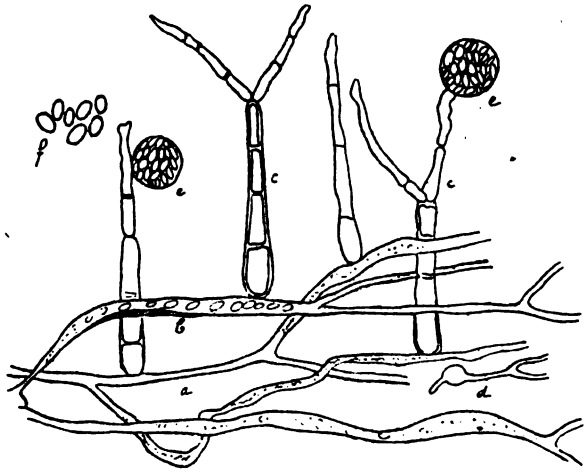


Fig. 19. — *Mortierella ficariæ* (Therry et Thierry). — *a*, Filaments mycéliens, cylindriques bosselés, ramifiés (dichotomie en diapason) ; *b*, Filament enflé, chlamydosporien et accumulation de mucus ; *c*, Tubes sporangifères simples et bifurqués ; *d*, Chlamydospore mycélienne germant ; *e*, Deux sporanges ; *f*, Spores, gr. 660. (D'après Therry et Thierry, Revue mycologique, 1882.)

ment rameux, *dichotomes en diapason*, septés et anastomosés, ondulés, tortueux, bosselés ou cylindriques, en ce cas, minces, puis dilatés pour se rétrécir à nouveau : différence due à l'abondance ou accumulation du protoplasma, ou à des chlamydospores mycéliennes. Chlamydospores aériennes et stylospores inconnues. Tubes sporangifères dressés, insérés sur les filaments mycéliens en *faux parasitisme*, simples ou divisés en deux branches généralement assises sur la quatrième cellule, régulièrement amincis de la base au sommet, de 3 à 7 fois septés. Cellule primaire plus courte, comme enflée, à paroi

Digitized by Google

plus robuste et surtout plus colorée. La cellule terminale porte de deux à cinq bourgeons ou *bosses*, irrégulièrement espacés et disposés, portant autant de sporanges. Sporanges sphériques, à membrane très diffluente et fugace, contenant un grand nombre de spores *ovales elliptiques*; nichées dans un mucus de la nuance des filaments ; spores légèrement lavées de jaune sur blanc bleuâtre.

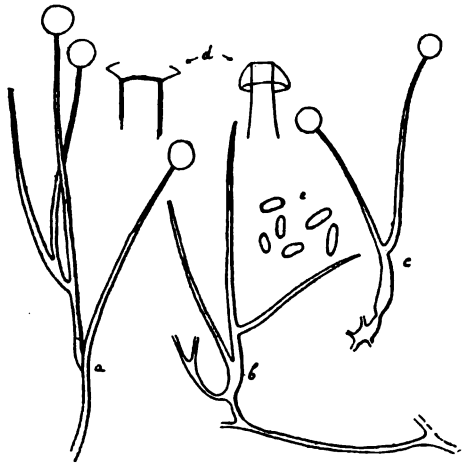


Fig. 20. — *Mortierella Bainieri* (Costantin). — *a*, *b*, *c*, Port général de la plante. Tubes sporangifères de 2 à 3 millimètres de hauteur; sporanges; *d*, Extrémités de sporanges avec collerette rabattue ; *e*, Spores de 6-9 μ sur 4-5 μ. (D'après Costantin, Bull. Soc. mycol. de France, 1888.)

Habite sur les feuilles vivantes du *Ficaria ranunculoides* [Lyon, parc de la Tête d'Or (fig. 19)]. Therry et Thierry [41].

Mortierella Bainieri (Costantin).

Tubes sporangifères ramifiés ; rameaux plus longs que le pied principal, quelquefois égaux; hauteur 2 à 3 millimètres; renflés vers la base, atténués au sommet.

Spores irrégulières ovales, de 6 à 9 μ de longueur sur 4 à 5 μ de large.

Chlamydospores et stylospores non étudiées.

Diffère de *Mortierella candelabrum* par ses spores qui sont rondes avec une partie nucléoïde au milieu.

Habitat : Sur *Tremellodon gelatinosum* (fig. 20). Costantin [43].

Mortierella Bainieri Cost., var. nov. *Jenkini* (A. L. Smith).

Sporangiophores ayant 1 millimètre de haut, ramifiés en sympode, effilés de 10 μ de large vers la base, à 5 μ en bas du sporange, non resserré et sans collier basal. Sporanges sphériques d'environ 25 μ de diamètre ; spores nombreuses, extrêmement petites, elliptiques, incolores, de 2 à 3 μ.

Habitat : *Terre humide* (fig. 21). A. L. Smith [44].

Fig. 21. — *Mortierella Bainieri* (Cost., var. nov. *Jenkini*. (D'après A.-L. Smith. Journal of botany, vol. XXVI.)

Mortierella capitata (E. Marchal).

Mycélium rampant, irrégulièrement ramifié, flexueux, blanc dès le début; hyphes fructifères munis à la base d'appendices mycéliens épais, dressés, parfois courbés à la base, continus, 350-500 μ de long, ne dépassant pas dans la partie médiane 18 à 23 μ d'épaisseur, simples (très rarement 1-2 rameaux courts, non renflés à la base), cylindriques, renflés sensiblement à la base, terminés au sommet par une partie ovoïde de 13-18 μ de diamètre, avec ramifications simples (plus rarement bifurqués irrégulièrement), cylindriques, grêles, droits ou légèrement incurvés à la base, portant à leur sommet des sporanges

Digitized by Google

de 8-14 et de 2,5-4 μ. Sporanges nombreux, oligospores, hyalins, pédicellés, réunis en un grand capitule, de 57-92 μ de diamètre ; spores toujours arrondies, petites, à peine réunies par une substance gélatineuse, présentant un gros noyau, de 8,5 à 10 μ de diamètre, hyalines (*sans figures dans le texte original*).

Habitat : *Parasite sur le stroma filamenteux de* Xylaria Tulasnei, *et trouvé sur le fumier de lièvre*. E. Marchal [48].

Mortierella apiculata (E. Marchal).

Mycélium grêle, continu, blanc, ramifié en dichotomie ; hyphes sporangifères non rassemblés, continus, dressés, blanc jaunâtre, se colorant en violet par l'iode, renflés à la base, très souvent incurvés, légèrement amincis au sommet, rameaux de 500-600 μ et de 15-18 μ. Rameaux ascendants ou étalés, terminés par un sporange globuleux de 40-50 μ de diamètre. Spores elliptiques, réunies par une substance gélatineuse, courbées asymétriquement, de part et d'autre, pourvues d'apicules courts et hyalins (apicules linéaires caducs), finement granuleuses à l'intérieur, hyalines, de 12-15 μ ; 5-5 et 6-6,5 μ (*sans figures dans le texte original*).

Habitat : *Sur des excréments d'oie*. E. Marchal [48].

Mortierella repens (A. L. Smith).

Mycélium rampant, étendu largement, sporangiophores s'élevant du mycélium, sans branches, délicats, légèrement effilés, très variables en longueur ; sporanges globuleux, variables de dimensions, d'environ 20 μ de diamètre, sans collier basal. Spores

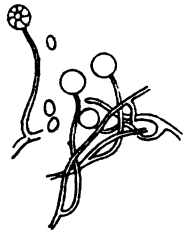


Fig. 22. — *Mortierella repens*. (D'après A. L. Smith, Journal of Botany, vol. XXXVI, 1897.)

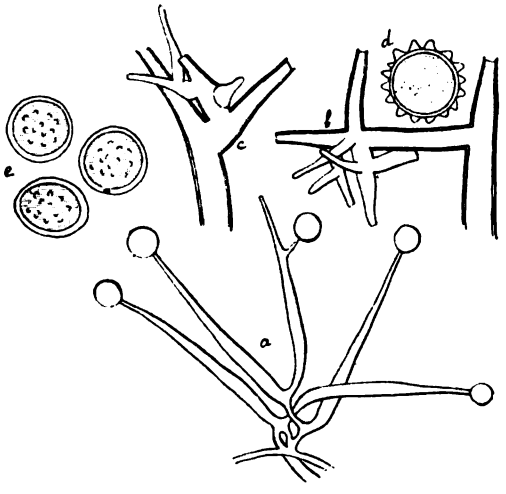


Fig. 23. — *Mortierella Van Tieghemi*. — *a*, Groupe de tubes sporangifères, gr. 100 ; *b*, *c*, Extrémités ramifiées de tubes sporangifères, gr. 660 ; *d*, Stylospore, gr. 660 ; *e*, sporangiospores, gr. 660. (D'après H. Bachmann, Jahrb. für wiss. Bot., 1900.)

peu nombreuses, cinq au plus, globuleuses, de 11 μ de diamètre.

Habitat : *Terre humide*. Newport. Monmouth, janvier 1897 (fig. 22).

Mortierella Van Tieghemi (Hans Bachmann).

Les tubes sporangifères en touffe naissent de 2 à 30 sur une branche aérienne du mycélium aérien. Ils ont de 250 à 400 μ de hauteur ; renflés à la base, (environ 17 μ), ils se rétrécissent peu à peu de façon à présenter à l'extrémité

Digitized by Google

un diamètre de 3,5 μ. Lorsqu'ils sont vieux, ils ont un grand nombre de cloisons transversales.

Vers le haut, des ramifications latérales, au nombre de 2 à 15, ayant une longueur maxima de 68 μ. Chaque branche peut en porter d'autres. Ramifications droites et sympodiales.

Les sporanges ont de 32 à 70 μ de diamètre, une membrane légèrement diffluente. La cloison de séparation est tantôt plane, tantôt légèrement voûtée. Ils renferment jusqu'à 50 spores, rondes, ovales ou irrégulières, de 6 à 20 μ de diamètre, incolores, lisses.

Rarement des kystes sur les filaments.

Stylospores arrondies, échinulées de 20 à 25 μ de diamètre.

Habitat : *Fumier de cheval* (fig. 23).

Mortierella humicola (Oudemans).

Mycélium formant gazon orbiculaire, non lamelleux, toujours blanc. Filaments rampants, ramifiés dichotomiquement, hyalins, continus, renflés çà et là, à protoplasma peu granuleux.

Tubes sporangifères dressés, parfaitement cylindriques, ni renflés à la base.

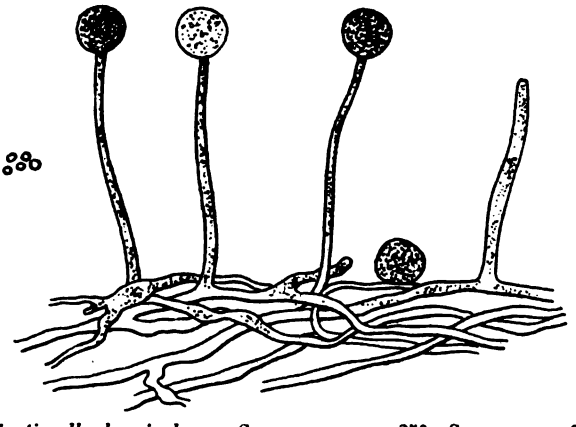


Fig. 24. — *Mortierella humicola.* — Sporanges, gr. 250 ; Spores, gr. 300. (D'après Oudemans et Koning, Arch. néerlandaises des Sc. exactes et naturelles, 2e série, 7, 1902.)

ni atténués à la partie terminale, à protoplasma rempli de grosses vacuoles, de 110 à 150 μ de hauteur, terminés par un sporange unique.

Sporanges globuleux de 20 μ de diamètre environ, à membrane hyaline très mince. Spores arrondies, très transparentes, de 3 μ de diamètre, hyalines; absence de tout vestige de noyau ou de gouttelettes.

Les chlamydospores et les stylospores ne sont pas signalées par l'auteur qui se borne à cette brève description, comme du reste pour les trois espèces nouvelles signalées par lui.

Habitat : *Produit d'une culture sur gélatine préparée, de terre humeuse pulvérisée, originaire du bois dit « Spanderswood » près de Bussum* (fig. 24).

Mortierella isabellina (Oud.).

Gazon mycélien zoné, d'abord blanc, mais bientôt gris dilué et enfin isabelle (d'où son nom), et plus dur au toucher.

Hyphes rampants, ramifiés dichotomiquement, continus, à protoplasma égal;

Digitized by Google

cylindres dressés, à peine plus réduits en haut, continus, de 120 à 200 μ de hauteur, hyalins, aboutissant à un sporange unique.

Sporanges arrondis de 12 à 25 μ de diamètre, transparents, à membrane hyaline. Spores arrondies, très réfringentes; séparément peu hyalines, présentant des leucytes colorés, 2 à 5 μ de diamètre. Chlamydospores sphériques ou

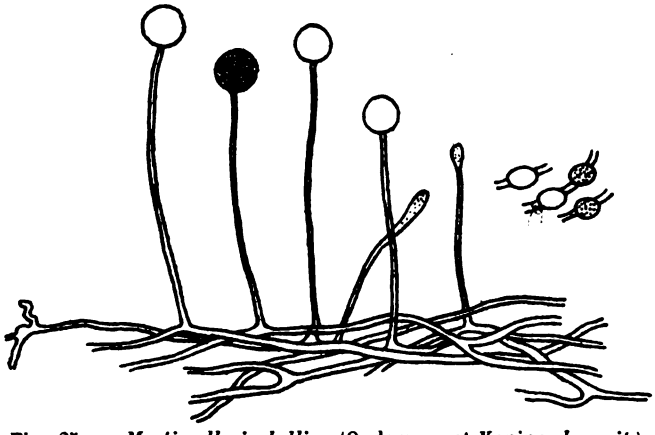


Fig. 25. — *Mortierella isabellina* (Oudemans et Koning, *loc. cit.*).

elliptiques, enfoncées dans la gélatine, transparentes, hyalines, à membrane très mince.

L'auteur différencie cette espèce du *M. simplex* par la couleur du mycélium et la dimension plus faible des spores (2 à 5 μ contre 10 μ) et les spores sans noyau.

Habitat : *Même origine que M. humicola* (fig. 25).

M. pusilla (Oud.).

Filaments arrondis, constamment blancs, laineux, se superposant très peu, en forme de lames, étalés ou agglomérés.

Hyphes rampants, hyalins (de 2,5 à 10 μ d'épaisseur), ramifiés dichotomiquement, remplis d'un protoplasma dense finement granuleux; filaments dressés de 4-6 μ d'épaisseur; un peu plus épais à la base, puis rétrécis dans la partie terminale; 130-170 μ de hauteur, terminés par un seul sporange. Sporanges arrondis, très transparents, de 24 à 28 μ de diamètre, à membrane hyaline. Spores parfaitement sphériques, très transparentes, hyalines, 2 à 2,5 μ de diamètre; pas de trace de noyau ou de vésicule.

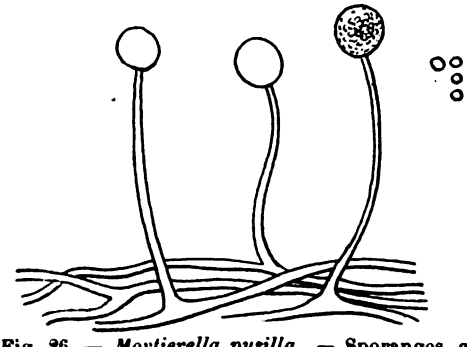


Fig. 26. — *Mortierella pusilla.* — Sporanges, gr. 250; Spores, gr. 500. (D'après Oudemans et Koning, *loc. cit.*)

Diffère du précédent par les filaments de nature lamelleuse et la couleur constamment blanche; les hyphes rampants à protoplasma dense et granuleux;

Digitized by Google

hyphes dressés atténués en haut, un peu renflés à la base ; spores hyalines. Diffère de *M. simplex* par les spores beaucoup plus petites (fig. 26).

Habitat : *Le même que le précédent.*

M. subtilissima (Oud.).

Filaments semblables à ceux de *M. pusilla*. Hyphes rampants, hyalins, continus, ramifiés; 3-5 μ d'épaisseur, à protoplasma homogène; filaments dressés, minces, continus, hyalins, 130-200 μ de hauteur; 2 1/3 à 3,5 μ d'épaisseur, simples, cylindriques, non renflés à la base, à peine atténués en haut, terminés

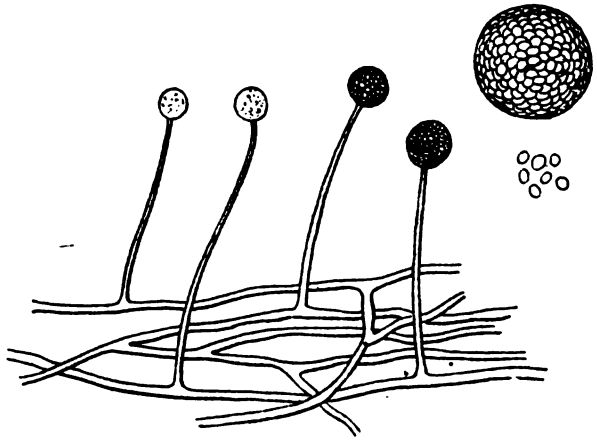


Fig. 27. — *Mortierella subtilissima.* — Tubes sporangifères, gr. 250; Sporanges, gr. 500; Spores, gr. 500. (D'après Oudemans et Koning, *loc. cit.*)

par un seul sporange. Sporanges arrondis, transparents, 20-26 μ de diamètre, à membrane hyaline. Spores transparentes, hyalines, arrondies (2 1/3 à 4 2/3 μ de diamètre) mélangées de spores ovales (4-5 et 5-6 μ).

Diffère de *M. pusilla* par le protoplasma homogène non granuleux des hyphes rampants ; les filaments dressés de 2 1/3 à 3 1/2 contre 5 μ; presque également épais sur toute la longueur, sporanges plus petits (20-26 contre 24-28 μ), spores arrondies plus petites mélangées avec d'autres elliptiques plus grandes, presque toutes égales.

Habitat : *Le même que le précédent* (fig. 27).

Mortierella Van Tieghemi, var. *cannabis*.

Cette Mucorinée nouvelle m'a été fournie par M. Matruchot qui l'avait trouvée sur des graines de chanvre, en 1898.

Dans cette variété, non décrite jusqu'à présent, les tubes sporangifères sont un peu plus petits que dans l'espèce décrite en 1900 par Bachmann (200 à 250 μ) ; ils sont ramifiés vers la partie terminale comme dans l'espèce type et chaque ramification nouvelle est légèrement étranglée à la base, puis renflée et continuée par une partie cylindrique plus étroite ; les rameaux sont plus courts que dans le type précédent (20-25 μ) ; les spores arrondies ou légèrement ovales ont de 7 à 8 μ de diamètre; les stylospores fortement échinulées ont un diamètre plus petit (15 à 20 μ) et elles sont souvent réunies en grappes à l'extrémité d'un même filament.

Je la désigne sous le nom de *Mortierella Van Tieghemi* var. *cannabis*.

Habitat : *Graines de chanvre.*

Digitized by Google

Mortierella canina n. sp. (J. Dauphin).

Je donne ici la caractéristique d'une nouvelle espèce de *Mortierella*, rencontrée dans une culture mélangée à un *Mucor*; elle présentait de nombreux sporanges; cultivée sur tranches de pomme de terre, elle n'a donné que des chlamydospores échinulées.

Le mycélium est un mycélium de *Mortierella* à protoplasma hyalin, finement granuleux, ramifié en dichotomie : la ramification en diapason est typique. Les tubes sporangifères naissent par touffes au nombre de 4 ou 5,

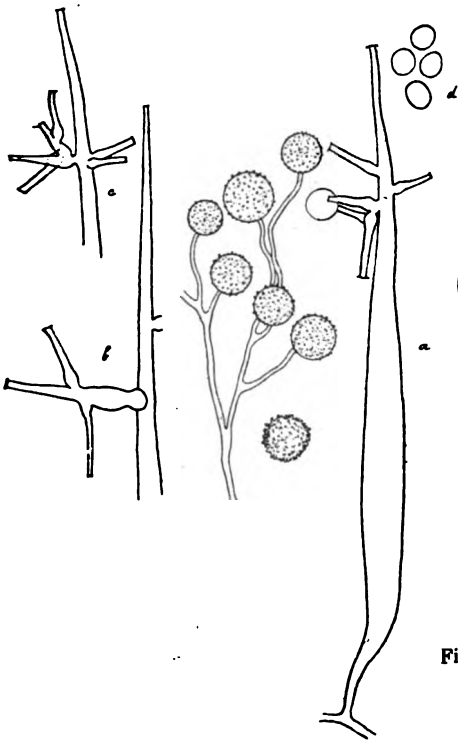


Fig. 28. — *Mortierella Van Tieghemi* (var. *cannabis*, J. Dauphin). — *a*, *b*, *c*, Tubes sporangifères, gr. 360; *d*, Sporangiospores, gr. 360; *e*, Mycélium et stylospores, gr. 360 (1).

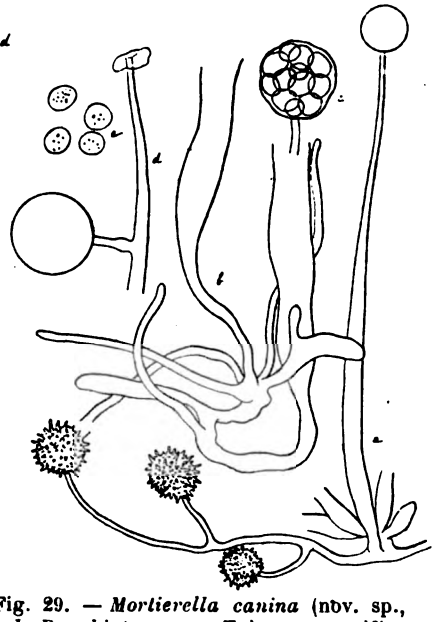


Fig. 29. — *Mortierella canina* (nov. sp., J. Dauphin). — *a*, Tube sporangifère dressé, sur le mycélium qui porte aussi des stylospores *fortement échinulées*; *b*, Mycelium avec plusieurs tubes sporangifères à divers états de développement; *c*, Sporange; *d*, Extrémité d'un tube sporangifère présentant par exception, une ramification; *e*, Sporangiospores (toutes les figures, gr. 360, J. Dauphin).

quelquefois davantage, sur un filament mycélien; ils sont un peu renflés à la base; quelquefois, ils débutent par un stolon qui se dresse et qui est à peine plus large que le filament mycélien d'où il provient; le renflement se produit alors un peu plus haut; le tube sporangifère a une longueur d'environ 350 à 400 μ; dans sa partie la plus large, il présente un diamètre de 14-16 μ; il diminue ensuite insensiblement de diamètre jusqu'à l'extrémité qui porte le sporange, où il présente un diamètre de 1,5 à 2 μ au plus. Il se termine par un sporange à membrane hyaline, presque complètement diffluente, sauf

(1) Cette figure et toutes celles qui vont suivre ont été dessinées à la chambre claire.

Digitized by Google

à la base où elle est un peu plus épaissie et rabattue en petite collerette à la déhiscence. La membrane de séparation est plane ou légèrement bombée lorsque le sporange est mûr. Le sporange (de 30 μ environ), contient de 10 à 15 spores hyalines, sphériques, irrégulières, de 8 à 9 μ de diamètre.

Le tube sporangifère est généralement simple, rarement ramifié ; mais alors une petite branche naît vers l'extrémité de la branche principale et se termine de la même façon par un sporange globuleux de même diamètre ou un peu plus petit que le sporange terminal ; la ramification, lorsqu'elle se produit, est légèrement étranglée à la base et en ce point la membrane du filament sporangifère paraît un peu épaisse. Le tube ne présente pas de rhizoïdes à sa base.

Les stylospores sont arrondies, mais légèrement aplaties ; elles sont discoïdes avec un diamètre de 15 à 16 μ ; les unes échinulées comme dans le *M. polycephala*, les autres avec de fortes échinules qui lui donnent l'aspect d'une petite noix de galle ; elles sont tantôt à l'extrémité des filaments mycéliens, tantôt sur des ramifications de longueur variable de ce même filament.

Je considère cette espèce, comme une espèce de passage entre *M. simplex* et *M. polycephala*.

Habitat : *Trouvé sur du fumier de chien, mélangé à des mucors.*

Mortierella raphani n. sp. (J. Dauphin).

Dans cette nouvelle espèce, les tubes sporangifères naissent tantôt isolés,

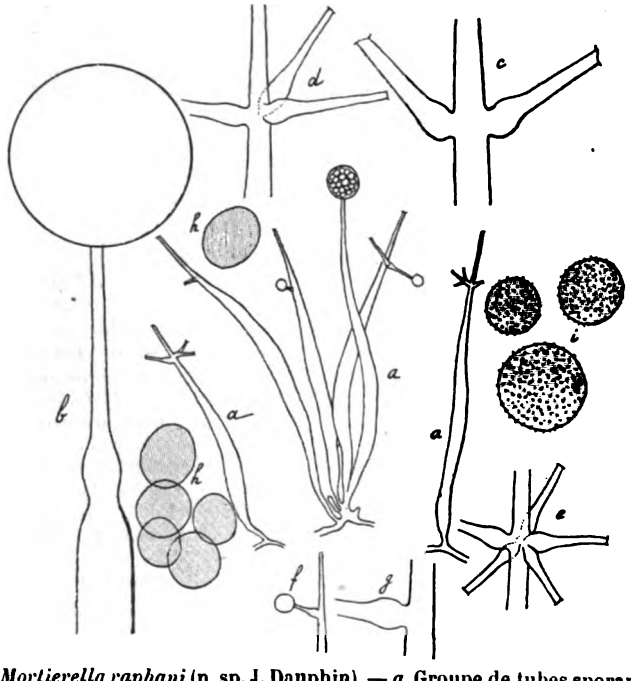


Fig. 30. — *Mortierella raphani* (n. sp. J. Dauphin). — *a*, Groupe de tubes sporangifères et sporanges isolés, gr. 114 ; *b*, Extrémité de tube sporangifère avec deux renflements opposés, débuts de ramification, gr. 680 ; *c*, *d*, *e*, Tubes sporangifères ramifiés (ramification en verticille), gr. 680 ; *f*, Une ramification isolée, gr. 114 ; *g*, La même plus grossie, gr. 680 ; *h*, Sporangiospores, gr. 680 ; *i*, Stylospores, gr. 680.

tantôt par groupe de cinq ou six en un même point d'un filament. Ils sont légèrement amincis à la base (1 μ) sur une petite longueur, puis se renflent

Digitized by Google

sur une grande partie de leur hauteur et leur diamètre atteint alors 10 à 12 μ. Ils se réduisent graduellement vers le haut. Ils ont une hauteur de 350 à 400 μ. Le sporange qui les termine, de 35 à 40 μ de diamètre, contient une vingtaine de spores arrondies ou légèrement ovoïdes, de 8 à 12 μ de diamètre.

Le tube sporangifère est quelquefois simple, mais le plus souvent ramifié; les ramifications naissent à une petite distance du sommet, soit isolément, soit le plus souvent par deux, trois, quatre ou plusieurs branches secondaires disposées *en verticille*. Chacune de ces branches présente un léger renflement basilaire. Parfois elles présentent des ramifications de second ordre.

Les stylospores peu échinulées ont un diamètre variable de 10 à 20 μ.

D'après l'énumération qui précède, le groupe des Mortiérellées comprendrait donc en tout trente et une espèces ou variétés actuellement décrites; mais nous allons voir que ce nombre doit être considérablement réduit, si l'on s'en tient aux caractères vraiment spécifiques, et si l'on fait entrer en ligne de compte les conditions dans lesquelles se développent les champignons et aussi les circonstances qui peuvent les modifier dans leur aspect et leurs dimensions.

La définition de l'espèce, dans ce groupe comme dans beaucoup d'autres, est assez difficile à donner d'une façon précise; en tout cas elle peut prêter à discussion. Mais il me semble qu'on pourrait adopter ici, comme on l'a déjà fait dans d'autres groupes, la notion de « grande espèce » et de « petite espèce ».

Sera considérée comme grande espèce, le type décrit par l'auteur qui pour la première fois l'aura étudié et en aura indiqué les caractères vraiment spécifiques : par exemple, *Mortierella simplex*, de Van Tieghem, sera une grande espèce de *Mortierella*. Une petite espèce se distinguera de l'espèce type, de la grande espèce, par deux ou plusieurs caractères de moindre importance, mais qui se maintiendront constants : l'espèce nouvelle précédemment citée, *Mortierella canina*, sera une petite espèce venant se placer à côté de *M. simplex*, grande espèce, à cause de son tube sporangifère simple, mais très atténué vers le haut, et de ses stylospores fortement échinulées.

Une variété sera déterminée par *un seul* caractère différent de celui de la grande espèce; par exemple, *Mortierella cannabis* sera une variété de *Mortierella Van Tieghemi*, n'en différant guère que par le renflement basal que présentent les ramifications du tube sporangifère.

Digitized by Google

On pourra donc caractériser le genre *Mortierella* :

1° Par la nature de ses filaments mycéliens non cloisonnés, au moins quand ils sont jeunes ; la ramification en diapason de ces mêmes filaments; les anastomoses que ces derniers présentent souvent ;

2° Par le tube sporangifère sans columelle et la membrane diffluente du sporange, membrane dont il reste seulement la partie basale plus ou moins persistante au moment de la déhiscence ;

3° La présence de stylospores plus ou moins fortement échinulées.

Les caractères qui permettront de grouper les différentes espèces de *Mortierella* devront être pris dans le mode de ramification du tube sporangifère ; et je crois que la classification de M. Van Tieghem, basée sur ce caractère, peut encore être adoptée aujourd'hui ; quoiqu'elle date de 1875, elle est la seule, en tout cas, qui ne puisse se contester — et comme cet auteur rangeait autrefois les neuf espèces, connues en 1875, en quatre grands groupes principaux, on pourra encore aujourd'hui considérer :

1° Les espèces où le filament sporangifère est simple ;

2° Les espèces où le filament sporangifère sera ramifié en grappe régressive plus ou moins nettement verticillée ;

3° Les espèces où le filament sera ramifié en cyme bipare, unipare ou hélicoïde ;

4° Les espèces où le filament sera ramifié à la fois en grappe régressive et en cyme unipare hélicoïde.

Dans ces quatre grands groupes, on placera toutes les espèces actuellement connues, en tenant compte de tous les caractères qui permettront de distinguer les grandes espèces, les petites espèces et les variétés.

En dehors du caractère tiré de la ramificatiou du tube sporangifère, je ne pense pas qu'il faille attribuer une importance spécifique à la grosseur du tube sporangifère, au diamètre des spores, encore moins à la couleur des filaments mycéliens. Coëmans a soin de dire que « quant à la dimension des spores, elle est trop variable pour qu'on puisse s'en servir comme caractère ». et M. Van Tieghem, dans les descriptions

Digitized by Google

qu'il donne des différentes espèces, se garde bien, tout en donnant les dimensions moyennes des spores, de s'en servir comme d'un caractère spécifique. Les spores sont trop variables dans un même type pour qu'on puisse considérer leur diamètre et leur forme comme caractéristiques d'espèces nouvelles. Je crois que beaucoup de caractères considérés comme spécifiques dépendent des conditions biologiques dans lesquelles le champignon s'est développé et qu'ils sont plutôt des caractères adaptationnels que des caractères héréditaires. Quant à la couleur du mycélium, elle peut varier du blanc neigeux au brun plus ou moins foncé, selon l'âge du champignon C'est un caractère à rejeter.

Il n'est pas douteux pour moi que le *Mortierella Bainieri*, décrit en 1888 par M. Costantin, ne soit au fond qu'une variété de *Mortierella candelabrum* (Van Tieghem), parce que le seul caractère qui les différencie, d'après M. Costantin lui-même, est tiré « des spores qui sont rondes avec une partie nucléoïde au milieu ». Une autre variété a été décrite par M. Bainier qui n'a pas créé une espèce nouvelle.

Pour les mêmes raisons, *Mortierella simplex* devrait comprendre certainement comme petite espèce, ou peut-être comme simple variété, le *Mortierella fusispora*, malgré la présence de spores en fuseau, parce que c'est là, avec la dimension du tube sporangifère, le seul caractère qui différencie nettement ces deux espèces.

Tous les *Mortierella* décrits par Oudemans sont pour moi une seule et même forme que l'on doit considérer comme variété de *Mortierella simplex*.

De même *Mortierella Rostafinskii* n'est qu'une variété ou tout au plus une « petite espèce » de *Mortierella strangulata*.

Je crois qu'il serait logique de considérer au point de vue de la classification des Mortiérellées :

1° Les grandes espèces comme *Mortierella simplex; Mortierella polycephala; Mortierella candelabrum; Mortierella biramosa*, etc. ;

2° Les petites espèces ;

3° Les variétés.

Si le groupe des Mortiérellées perdait ainsi un certain

Digitized by Google

nombre d'espèces plus ou moins nettement caractérisées, il aurait au moins l'avantage d'être plus homogène et je crois que la systématique du groupe y gaaitgne enr simplicité.

Du reste, en parlant ainsi, je ne fais que suivre l'exemple donné par des savants bien connus. M. Bainier décrivant, dans ses observations sur les Mucorinées, un *Mortierella candelabrum* qui n'était pas identique à celui de M. Van Tieghem, se garde bien de créer une espèce nouvelle parce que les spores du type qu'il examine sont ovales au lieu d'être rondes. — M. Matruchot, étudiant la structure du protoplasma chez un *Mortierella reticulata* remarque que l'appareil sporangifère est plus grand que celui du type décrit par MM. Van Tieghem et Le Monnier; les branches sporangifères latérales, *nombreuses*, sont souvent *ramifiées*, etc., etc.; « mais toutes ces différences sont insuffisantes pour constituer un type spécifique distinct » et l'auteur considère la forme observée comme une simple variété de *M. reticulata*.

J'ai moi-même observé que, dans certaines conditions, le *Mortierella polycephala* peut donner des branches latérales ramifiées que ni Coëmans, ni M. Van Tieghem n'ont jamais signalées; ce n'est pas là un caractère spécifique. Je pourrais en dire tout autant pour la variété nouvelle *M. canina* que je décris et que je considère comme un terme de passage entre *M. simplex* et *M. polycephala*.

Je proposerai donc pour la famille des Mortiérellées la classification suivante, que je crois suffisamment justifiée; les caractères tirés de la grosseur des tubes sporangifères, des sporanges ou des spores étant tout à fait secondaires et propres tout au plus à établir des différences parmi les variétés qu'on pourra découvrir, ou parmi les anciennes espèces que je considère comme des *variétés* créées par l'adaptation à des conditions de vie biologique que nous connaissons mal. (Voir tableau ci-contre) (1).

(1) Dans ce tableau, j'ai groupé les formes connues de *Mortierella* d'après les caractères tirés de la ramification du tube sporangifère. J'ai rangé dans trois colonnes différentes celles que je considère comme appartenant à l'une ou l'autre des catégories : 1° grandes espèces; 2° petites espèces; 3° variétés.

Digitized by Google

Genre Mortierella.

MODE DE RAMIFICATION du tube sporangifère.	GRANDES ESPÈCES	PETITES ESPÈCES	VARIÉTÉS
I. — Tube sporangifère simple.	**Mortierella simplex.**	*M. fusispora.* *M. apiculata.* *M. canina.*	M. isabellina. M. humicola. M. pusilla. M. subtilissima. M. repens.
	M. strangulata. **M. tuberosa.** **M. pilulifera.**	*M. Rostafinskii.*	
II. — Tube sporangifère ramifié en grappe régressive plus ou moins verticillée.....	**M. polycephala.**	*M. Van Tieghemi.* *M. capitata.* *M. crystallina.* *M. echinulata.* *M. raphani.*	M. Van Tieghemi, *var.* cannabis.
	M. reticulata.	.....	M. reticulata, *var.* (Matruchot).
III. — Tube sporangifère ramifié en cyme bipare ou unipare hélicoïde.	**M. candelabrum.**	*M. Bainieri.* *M. minutissima.* *M. nigrescens.*	M. Bainieri, *var.* Jenkini.
IV. — Tube sporangifère ramifié en grappe régressive et en cyme unipare hélicoïde.....	**M. biramosa.**		

ESPÈCES DOUTEUSES

M. diffluens. — M. ficariæ. — M. arachnoides.

Dans le tableau qui suit, je dresse la liste de toutes les espèces de *Mortierella* décrites jusqu'à ce jour, en donnant, à côté du nom spécifique, le nom de l'auteur qui l'a découverte, la date de la publication, et en suivant l'ordre chronologique qui est d'ailleurs celui que j'ai suivi dans la description des divers types. Dans les autres colonnes j'indique par les mots mycélium, stylospores, chlamydospores, sporanges et zygospores, que ces différents organes ont été étudiés par les auteurs ou qu'ils les ont signalés dans leurs descriptions. En comparant les différentes lignes de ce tableau, on peut d'un coup d'œil se rendre compte que beaucoup d'espèces ont été incomplètement suivies dans leur développement. Le mycélium et les stylospores ont été souvent ignorés ; les sporanges seuls ont été vus partout ; il est vrai que ce sont les organes les plus faciles à observer (1).

(1) Dans ce tableau, les tirets ont la valeur du mot placé au-dessus dans la même colonne et signifient que l'organe désigné a été étudié par l'auteur ; les guillemets indiquent que l'organe n'a pas été décrit.

Digitized by Google

Genre Mortierella.

Tableau des espèces actuellement connues, avec indication des organes végétatifs ou reproducteurs décrits par les auteurs qui les ont découvertes.

ESPÈCES	MYCÉLIUM — Hyphes. Thalle.	STYLOSPORES — Conidies.	CHLAMYDOSPORES — Conidies mycéliennes. Kystes.	SPORANGES (Spores).	ZYGOSPORES — Œufs. Zygotes.
1. Mortierella polycephala. 1863. Coëmans.	»	»	»	Sporanges.	»
1873. V. Tiegh. et Le M.	Mycélium.	Stylospores.	Chlamydospores.	—	
1903. J. Dauphin.	—	—		—	Zygospores.
2. M. crystallina ..... 1871. Harz.	»	»	»	—	»
3. M. echinulata..... 1871. Harz.	»	»	»	—	»
4. M. reticulata..... 1873. V. Tiegh. et Le M.	Mycélium.	Stylospores.	Chlamydospores.	—	»
5. M. candelabrum..... 1873. V. Tiegh. et Le M.	—	»	—	—	»
6. M. simplex..... 1873. V. Tiegh. et Le M.	—	Stylospores.	—	—	»
7. M. diffluens..... 1874. Sorokine.	»	»	»	—	»
8. M. pilulifera..... 1875. V. Tieghem.....	Mycélium.	Stylospores.	»	—	»
9. M. tuberosa..... 1875. Van Tieghem.	—	—	Chlamydospores.	—	»
10. M. strangulata ..... 1875. Van Tieghem.	—	—	»	—	»
11. M. biramosa..... 1875. Van Tieghem.	—	—	»	—	»
12. M. nigrescens ..... 1876. Van Tieghem.	—	»	»	—	Zygospores.
13. M. fusispora..... 1876. Van Tieghem.	—	Stylospores.	»	—	»
14. M. minutissima..... 1876. Van Tieghem.	—	»	»	—	»
15. M. Rostafinskii..... 1878. Brefeld.	—	»	Chlamydospores.	—	Zygospores.
16. M. Ficariæ..... 1882. Therry et Thierry.	»	»	»	— ?	»
17. M. arachnoides..... 1885. Therry et Thierry.	»	»	»	— ?	»
18. M. Bainieri ..... 1888. Costantin.	Mycélium.	»	»	—	»
19. M. capitata..... 1891. Marchal.	—	»	»	—	»
20. M. apiculata..... 1891. Marchal.	—	»	»	—	»
21. M. repens. 1897. A. L. Smith.	—	»	»	—	»
22. M. Van Tieghemi..... 1900. Bachmann.	Mycélium.	Stylospores.	Chlamydospores.	—	»
23. M. isabellina..... 1902. Oudem. et Kon.	—	»	»	—	»
24. M. humicola ..... 1902. Oudem. et Kon.	—	»	»	—	»
25. M. pusilla..... 1902. Oudem. et Kon.	—	»	»	—	»
26. M. subtilissima ..... 1902. Oudem. et Kon.	—	»	»	—	»
27. M. Van Tieghemi *var.* cannabis. 1908. J. D.	—	Stylospores.	»	—	»
28. M. canina..... 1908. J. D.	—	—	»	—	»
29. M. raphani..... 1908. J. D.	—	—	»	—	»

Digitized by Google

III

ÉTUDE BIOLOGIQUE DE MORTIERELLA POLYCEPHALA

1° Description du mortierella polycephala.

Coëmans, qui a créé le genre, a découvert *Mortierella polycephala* parasite sur les champignons supérieurs *Dædalea* et *Polyporus*. Je dois à l'obligeance de M. le professeur Matruchot, d'avoir pu étudier cette espèce sans être obligé de la rechercher moi-même et de l'isoler en vue des cultures pures. Je l'ai, du reste, trouvée un peu plus tard, en 1904, vivant non en parasite, mais en saprophyte sur du pain moisi, dans la Forêt-Noire.

Coëmans n'en a étudié ni le mycélium, ni les chlamydospores, quoiqu'il ait donné quelques détails sur l'organisation de ce champignon [1] : « Au microscope, dit-il, il se montre formé d'un système radicellaire peu remarquable, non cloisonné, de filaments mucoréens rampants, très longs et peu rameux, enfin de cellules fructifères dressées, très nombreuses, et disposées ordinairement sur des gonflements gibbeux de la tige. »

« Les cellules fructifères sont comparativement courtes (1/4 à 1/5 de millimètre), renflées vers le milieu et effilées vers la pointe que termine un assez gros sporange. Sous celui-ci s'en trouvent d'autres (2-9) d'ordinaire plus petits, portés sur de courts pédicelles et disposés en faux verticilles, irrégulièrement espacés. — Les sporanges sont incolores, oligospores (4 à 20), dépourvus de sporophore intérieure et renferment des spores incolores, ovales ou arrondies dont le contenu est homogène ou présente parfois un nucléus central. Quant à la dimension des spores, *elle est trop variable pour qu'on puisse s'en servir comme caractère* ; elle est ordinairement proportionnée au volume du sporange et varie souvent dans un même réceptacle. »

M. Van Tieghem, dans son premier mémoire sur les Mucorinées, donne quelques détails sur le *Mortierella polycephala* et éclaire d'un nouveau jour la morphologie de l'espèce que j'ai étudiée moi-même en détail; il en caractérise les chlamydospores aériennes, échinées et lisses, le mycélium aérien et aquatique;

Digitized by Google

les tubes sporangifères et les sporanges; les figures qu'il en donne sont suffisamment explicites pour qu'à première vue, on puisse facilement reconnaître l'espèce étudiée (fig. 4).

C'est donc en me reportant à la description de Coëmans et à celle de MM. Van Tieghem et Le Monnier, que j'ai pu

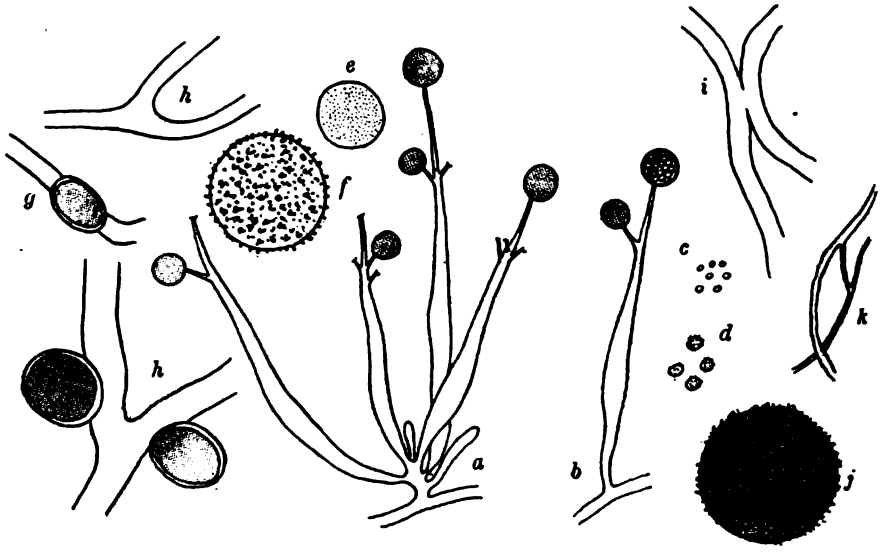


Fig. 31. — *Mortierella polycephala.* — *a*, Groupe de tubes sporangifères; *b*, Pied isolé avec sporanges; *c*, Sporangiospores; *d*, Stylospores, gr. 150; *e*, Sporangiospore, gr. 875; *f*, Stylospores, gr. 875; *g*, *h*, Chlamydospores mycéliennes, gr. 875; *j*, Zygospore, gr. 45; *h*, Ramification en diapason, gr. 875; *i*, *k*, Filaments anastomoses; *i*, 875; *k*, 150.

déterminer l'espèce de *Mortierella* dont j'allais entreprendre l'étude (fig. 31).

J'ai observé heure par heure le développement du *Mortierella polycephala* sur milieu gélosé, en cellule de Van Tieghem; le fond de la cellule est rempli d'eau, de sorte que la germination peut avoir lieu. Elle se produit en général au bout de cinq à six heures pour la spore, de sept à huit heures pour la chlamydospore dont la membrane est plus épaisse; à ce moment, et sans qu'on observe que la spore ait gonflé, en un point quelconque apparaît un renflement qui bientôt s'étale et donne, de part et d'autre de la spore, un ou deux, quelquefois trois filaments sensiblement égaux qui vont s'allonger en se ramifiant à la surface du substratum; le développement est d'abord très

Digitized by Google

lent ; en vingt-quatre heures, les deux premiers filaments que j'observai avaient à peine l'un 15 μ, l'autre 9 μ. Peu à peu, les filaments, en se développant, se divisent par dichotomie, s'anastomosent, et, au bout de trois à quatre jours, recouvrent toute la surface du substratum. Ils commencent à s'étaler au delà et à se dresser dans l'air en même temps que les fructifications apparaissent. Il est à noter qu'au début, le mycélium, ainsi formé par la germination de la spore ou de la chlamydospore, est tout à fait superficiel ; je n'ai jamais observé, dans les débuts de la vie du champignon, que les filaments poussent des prolongements à l'intérieur, de manière à former le mycélium aquatique dont parle M. Van Tieghem et que l'on remarque un peu plus tard, même lorsque le champignon pousse sur un milieu solide ou demi-solide comme la gélose ou la gélatine.

Le mycélium étant encore très jeune, et les fructifications peu abondantes, les filaments sont remplis d'un protoplasma parfaitement homogène et réfringent ; c'est alors que l'on peut bien observer la circulation protoplasmique déjà signalée par M. Van Tieghem dans son deuxième mémoire sur les Mucorinées. Dans le *Mortierella polycephala*, on observe nettement deux courants très réguliers qui vont en sens contraire, un courant central et un courant périphérique. Le premier est plus rapide que le second. Ils sont visibles à un fort grossissement, grâce à l'inégale réfringence du protoplasma qui en est le siège ; le protoplasma périphérique, étant plus condensé, est plus réfringent que le protoplasma central. A l'extrémité d'un tube mycélien, le courant semble se réfléchir dans tous les plans, continuer en sens inverse, et constituer alors le deuxième courant pariétal plus lent quoique tout aussi régulier. Quand le mycélium est plus âgé, le protoplasma devient réticulé, puis vacuolaire, des globules huileux apparaissent dans sa masse et la circulation protoplasmique est, sinon complètement supprimée, du moins très difficile à observer ; d'autant plus que souvent alors, des cloisons interviennent pour gêner ce mouvement.

Lorsque le mycélium est sectionné en un point quelconque, il se reforme très vite une cloison, et l'accroissement se fait de nouveau normalement. M. Van Tieghem a signalé cette faci-

Digitized by Google

lité des Mucorinées, de cicatriser rapidement toute blessure.

Comment et pourquoi le mycélium se ramifie-t-il?

Il est un fait certain, c'est que l'allongement du filament mycélien est non pas terminal, mais subterminal. En arrière de l'extrémité du filament, la membrane est moins épaisse qu'au bout, et elle est très probablement, par cela même, plus élastique et plus apte à céder sous la poussée protoplasmique. Elle s'épaissit un peu plus tard, tandis que près de l'extrémité du filament elle reste toujours plus mince. Si, à un moment donné, la circulation est plus active, il se forme à cet endroit un petit bourgeon qui sera le commencement d'une nouvelle ramification.

Il serait intéressant de rechercher quelles sont les influences qui interviennent pour provoquer la poussée des deux bourgeons latéraux qui vont allonger le filament en dichotomie. En général, quand il va se produire une pareille division, les deux nouveaux bourgeons apparaissent dans un plan passant par l'axe du filament et parallèle à la surface du substratum. C'est ainsi que cela se passe dans une culture en cellule Van Tieghem, et il est possible que la lumière ait un rôle dans l'apparition de ces bourgeons qui doivent se former de cette manière quand le mycélium est aérien tout aussi bien que lorsqu'il est superficiel.

Lorsque la ramification se produit latéralement, elle est, comme dans le cas des ramifications dichotomes, annoncée par la réduction de l'épaisseur de la membrane du tube, qui pousse alors vers l'extérieur un bourgeon. Celui-ci va se développer comme les précédents. Le protoplasma, pour produire ces bourgeons, doit probablement sécréter une diastase capable de résorber en partie la membrane qui peut alors faire hernie au dehors.

Très souvent aussi, le contact du filament primitif avec un corps étranger plus dur que le filament lui-même, est une cause de ramification.

J'avais souvent été frappé de ce fait que, là où se trouvait une ramification, je voyais aussi fréquemment une parcelle de substance quelconque contre laquelle le filament venait s'aplatir et, à partir de là, bifurquait à droite et à gauche. Et, en effet, en semant plusieurs spores les unes à côté des autres, on peut

Digitized by Google

observer que chaque fois qu'un filament vient au contact de la spore voisine, il s'aplatit peu à peu et cesse de s'accroître, puis, sous la poussé de la turgescence, il se produit de chaque côté deux prolongements qui vont s'allonger à leur tour, puis se diviser de la même façon et probablement sous l'influence d'une même cause, si les filaments qui rencontrent l'obstacle n'arrivent pas à le franchir ou à passer par-dessous.

Formation des chlamydospores aériennes (Stylospores).

A partir du moment où tout le substratum est recouvert de cette toile de filaments mycéliens plus ou moins enchevêtrés et anastamosés, les fructifications aériennes apparaissent sous la forme de stylospores (fig. 32). En même temps, pour subvenir aux besoins de ces nouveaux organes, le mycélium pousse des prolongements vers l'intérieur du milieu nutritif et le mycélium aquatique va prendre naissance, produisant par places des kystes ou chlamydospores sessiles lisses.

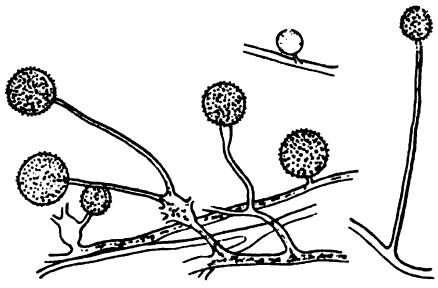


Fig. 32. — *Stylospores.* — Divers modes d'insertion des stylospores, gr. 480.

Sur un filament mycélien, provenant de la germination d'une spore ou d'une chlamydospore observée en cellule de Van Tieghem, apparaît un renflement causé par l'afflux du protoplasma qui se condense en ce point. Ce renflement grandit et présente alors un léger étranglement qui le sépare nettement du filament mycélien ; il peut alors se présenter deux cas : ou bien le renflement va s'agrandir sans que le pédicelle s'allonge lui-même, ou bien le pédicelle va s'allonger plus ou moins en même temps que le renflement va s'exagérer. Il se formera alors, ou une chlamydospore presque sessile, ou une chlamydospore longuement pédicellée.

Quoi qu'il en soit, les transformations ultérieures seront sensiblement les mêmes. Le protoplasma s'accumule à l'intérieur du

Digitized by Google

renflement et garde tout d'abord son homogénéité, pendant que le renflement, en général sphérique, s'agrandit. Au moment d'atteindre sa dimension définitive, une cloison apparaît qui sépare l'extrémité du pédicelle de la stylospore, tandis que la membrane du filament mycélien repoussée par la pression interne se résorbe et est remplacée par une membrane plus épaisse formée en dessous, qui deviendra l'exospore. A ce moment, le protoplasma intérieur est absolument homogène et très réfringent; il possède un pouvoir dispersif considérable;

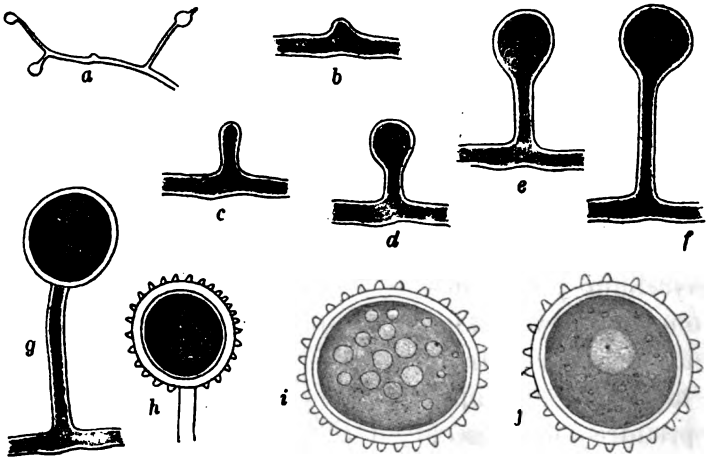


Fig. 33. — Développement d'une stylospore. — *a, b, c, d, e, f, g,* Différents états du développement de la stylospore, gr. 1000; *h, i, j,* Coupes à travers des stylospores fixées à l'alcool et montrant l'aspect différent du protoplasma plus ou moins remplies de gouttelettes huileuses, gr. 1300.

il m'est arrivé souvent dans d'autres circonstances, d'examiner ces spores à la lumière blanche du bec Auer et de constater que suivant l'incidence des rayons lumineux, le contenu protoplasmique de ces stylospores apparaît marqué des plus vives couleurs. Suivant la mise au point, on peut les voir coloriées très nettement de rouge, de jaune, de bleu ou de violet. J'ai quelquefois observé le même phénomène dans les sporangiospores. Plus tard le protoplasma devient finement granuleux, et plus ou moins réticulé; une deuxième membrane (l'endospore) apparaît en dedans de la première, tandis que celle-ci se montre souvent hérissée de prolongements qui, à un fort grossissement, lui donnent assez l'aspect d'une roue dentée.

Digitized by Google

A l'intérieur des mailles de ce protoplasma réticulé apparaissent des gouttelettes huileuses dont le nombre va en augmentant, tandis que le protoplasma se rassemble sur le pourtour, laissant au centre une partie réfringente formée par de l'huile. En traitant par les réactifs colorants, on peut, quoique assez difficilement, constater la présence de quelques noyaux à la périphérie. L'hématoxyline, après fixation par l'alcool, m'a donné le meilleur résultat (fig. 33).

Je n'ai pas souvent observé la formation de chlamydospores aquatiques, car le mycélium s'étend très peu à l'intérieur du milieu nutritif quand celui-ci est constitué par un substratum solide, comme c'est le cas de la gélose.

Au bout de cinq à six jours, huit jours au plus, le mycélium est répandu sur toute la surface du milieu nutritif et dans l'air de la cellule Van Tieghem se dressent une multitude de chlamydospores aériennes, les unes (en très petit nombre), lisses, peu ou pas pédicellées, les autres très fortement échinulées.

Malgré tous mes efforts, je n'ai pu pousser plus loin l'étude de *Mortierella polycephala* en cellule de Van Tieghem ; j'ai essayé d'employer des milieux de culture solides ou liquides, gélose, gélatine, eau, jus de pruneaux, jus d'orange, etc., en choisissant naturellement des milieux assez transparents. Toutes mes tentatives sont restées infructueuses et j'ai dû, pour aller plus loin dans l'étude des formations fructifères, m'adresser aux cultures en grandes surfaces, soit dans des assiettes stérilisées, soit dans des tubes de Roux, soit dans des boîtes de Pétri, soit encore dans des ballons Pasteur.

En culture cellulaire je n'ai jamais obtenu que des chlamydospores simplement pédicellées. Dans des cultures en grande surface, dans des boîtes de Pétri, des ballons ou des tubes, j'ai rencontré, quoique plus rarement, des formes ramifiées comme celles que M. Van Tieghem a décrites. Du reste, dans les ramifications des organes reproducteurs, on peut rencontrer de très grandes variations. J'y reviendrai un peu plus loin.

Pour étudier les autres organes reproducteurs, j'ai donc fait de grandes cultures en surface, en employant comme substratum, du fumier de cheval stérilisé à l'autoclave à 120° et placé dans de larges assiettes qui, elles-mêmes, avaient été

Digitized by Google

flambées. L'ensemencement étant fait aseptiquement, j'obtenais au bout de trois ou quatre jours, une très belle poussée de mycélium qui bientôt se couvrait en même temps de sporanges et de chlamydospores. J'ai toujours observé dans ces conditions la prédominance des sporanges sur les chlamydospores ou les stylospores, ce qui laisserait supposer que, dans la vie ordinaire, sur un substratum naturel où la nourriture est abondante, ce ne sont pas nécessairement les chlamydospores qui se forment d'abord, les sporanges se produisant ensuite lorsque les conditions deviennent mauvaises. Les deux sortes d'organes peuvent apparaître simultanément.

M. Van Tieghem a très bien décrit la formation des sporanges et je ne peux mieux faire que de citer ici ce qu'il disait à ce sujet en 1875 dans son deuxième mémoire sur les Mucorinées : « Pour constituer un sporange, une branche issue d'une entrefourche rampante, se dichotomise plusieurs fois de suite en des points très rapprochés ; il se forme ainsi une sorte de rosette aplatie, dont les tubes rayonnants, courts et gros, accumulent une grande quantité de protoplasma sombre et finement granuleux. Cette provision faite, une (ou plusieurs) des branches de la rosette se dresse perpendiculairement au plan d'appui, se renfle beaucoup et s'allonge en s'amincissant en cône au sommet pour former le tube sporangifère. »

Dans le *Mortierella polycephala*, le protoplasma du tube sporangifère, homogène, est doué de mouvements très actifs, quand apparaît le renflement terminal qui va constituer le sporange.

Lorsque se produit la cloison qui sépare le sporange du tube sporangifère, ce mouvement se ralentit de plus en plus et on aperçoit au milieu du protoplasma de nombreuses gouttelettes huileuses.

Souvent le tube sporangifère présente plusieurs ramifications secondaires en nombre variable, insérées en faux verticilles, terminées chacune par un renflement qui deviendra lui-même un sporange. Chacune de ces ramifications peut, à son tour, en donner d'autres suivant les conditions. Leurs sporanges ne sont pas nécessairement consécutifs à la maturation du sporange terminal ; celui-ci peut ne pas être encore arrivé à

Digitized by Google

maturité que déjà le deuxième ou le troisième sporange a laissé échapper ses spores (fig. 34).

A l'intérieur du sporange le protoplasma est d'abord homogène, puis réticulé avec des vacuoles plus ou moins volumineuses; la cloison qui sépare le sporange du tube est plane ou légèrement concave. Un peu plus tard, au contraire, un travail

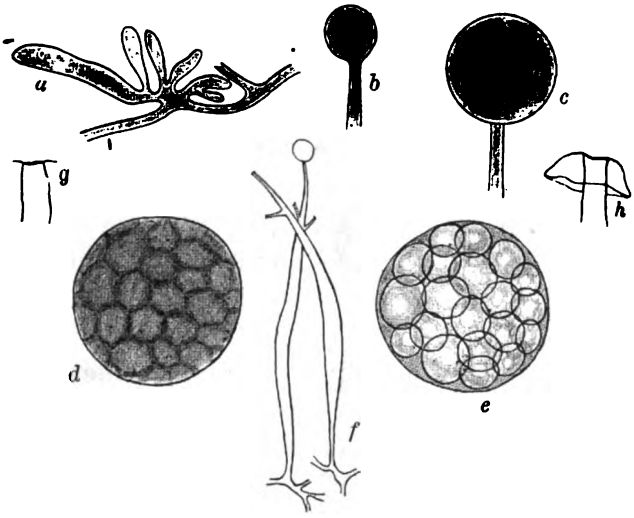


Fig. 34. — *Mortierella polycephala.* — *a*, Début de tubes sporangifères, gr. 670; *b*, Début de sporange, gr. 670; *c*, Sporange jeune, gr. 670; *d*, Sporange avec protoplasma montrant la division en polyèdres, gr. 670; *e*, Sporange mûr avec les spores, gr. 670; *g*, *h*, Extrémité du tube sporangifère avec collerette rabattue; *f*, Tubes sporangifères, gr. 115.

se fait à l'intérieur du sporange qui montre un certain nombre de petites sphères huileuses très réfringentes. Autour de ces sphères, le protoplasma se dispose comme les faces d'un polyèdre dont le globule semble occuper le centre; puis le protoplasma interne se concentre autour du globule réfringent central et forme une masse arrondie, tandis que la face externe du protoplasma semble se condenser en une membrane très mince, très diffluente. En même temps la partie protoplasmique qui formait les faces du polyèdre paraît se résorber, ou du moins se transformer en une masse gélatineuse qui maintiendra pendant quelque temps les spores agglutinées entre elles, même lorsque la membrane du sporange aura disparu. Quand on examine des spores au moment de la maturité, on les voit en effet

Digitized by Google

souvent nager dans le liquide de la préparation et se présenter sous une forme qui rappelle une *morula*. Cette membrane est extrêmement mince et se distingue difficilement, à partir du moment où les spores sont formées à l'intérieur du sporange; elle disparaît dès qu'elle est au contact de l'eau et il n'en reste qu'une faible partie à l'extrémité du tube sporangifère.

Les spores.

La spore du *Mortierella polycephala* est sphérique en général, parfois légèrement ovale; elle présente un diamètre d'environ 10 à 14 μ; mais ce diamètre est très variable et dans la même culture il n'est pas rare d'en rencontrer de très petites, d'environ 1 à 2 μ de diamètre et de très grandes allant jusqu'à 20 et même 25 μ. Les dimensions que je donne ont été prises comme moyenne d'un très grand nombre de mesures faites sur des spores provenant d'une culture en grande surface sur un substratum naturel, le fumier de cheval. La spore jeune, au sortir du sporange, se montre formée d'une membrane très mince, à l'intérieur de laquelle se trouve un protoplasma d'abord homogène, puis finement granuleux, qui paraît tout d'abord régulièrement disposé à l'intérieur de la membrane et présente parfois une partie plus claire au centre (fig. 35). En examinant à un fort grossissement, avec l'objectif à immersion, une préparation fixée à l'alcool et colorée à la fuchsine ou à l'hématoxyline, on voit que ce protoplasma affecte une disposition finement réticulée, avec quelques noyaux qui paraissent plutôt disposés en petit nombre à la périphérie. Un peu plus tard, dans une spore plus âgée, la partie protoplasmique devient plus franchement réticulée, en même temps qu'apparaissent des gouttelettes huileuses disposées irrégulièrement du centre vers l'extérieur; puis ces gouttelettes semblent se résoudre en un seul globule qui occupe le centre

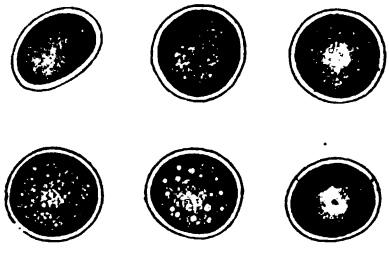


Fig. 35. — Sporangiospores à divers états: on y voit le protoplasma d'abord homogène, puis réticulé, avec noyaux surtout répartis à la périphérie, et des gouttelettes huileuse dans les spores plus âgées (fixées à l'alcool, gr. 850).

Digitized by Google

de la spore, tandis que la partie protoplasmique reste autour du globule huileux central.

Les zygospores.

J'ai observé, en 1902, les zygospores du *Mortierella polycephala*; elles ont une forme arrondie, légèrement discoïde; elles apparaissent, au milieu du mycélium aérien, comme une tache blanchâtre qui brunit très rapidement, puis devient presque noire au bout de quelques mois. Elles ont un diamètre qui varie beaucoup et peut atteindre parfois 1 millimètre. Examinées au microscope, elles se montrent comme une tache arrondie noire que l'éclairage le plus intensif ne permet pas d'examiner par transparence. Elles sont entourées d'un réseau très serré de filaments mycéliens qui forme autour de l'œuf une sorte de buisson protecteur. Si on essaie de supprimer cette enveloppe, ce qui est extrêmement délicat, on n'est pas mieux renseigné sur la nature particulière de ces organes.

On sait que les zygospores ont déjà été signalées par MM. Van Tieghem et Le Monnier, chez le *Mortierella nigrescens*, et par M. Brefeld, chez le *Mortierella Rostafinskii*.

Les zygospores apparaissent par places au milieu du mycélium qui se montre, d'autre part, riche en sporanges et en chlamydospores. Je les ai toujours rencontrées accompagnées de sporanges, et jamais dans les conditions où les sporanges n'apparaissent pas.

A l'endroit où on les observe, le mycélium est toujours plus compact; quand on les écrase en les plaçant sous une lamelle, on voit l'enveloppe de cet organe se briser en un endroit et le contenu protoplasmique s'en échappe en même temps qu'une multitude de gouttelettes d'huile reconnaissables à leur réfringence particulière.

Les renseignements techniques concernant l'étude de ces organes particuliers, si rarement observés chez les Mortiérellées, font défaut, et les auteurs qui les ont signalés n'indiquent en aucune manière leur façon d'opérer quand il s'agit de les étudier d'une manière approfondie.

J'ai dû tâtonner longtemps avant d'arriver à un résultat significatif, et, encore aujourd'hui, en serais-je réduit, dans

Digitized by Google

cette étude, à les signaler tout simplement si je n'avais pu observer directement quelques états de leur développement.

L'observation directe ne permet pas de les étudier convenablement, à moins d'avoir affaire à des organes très jeunes, et ma première idée a été d'en faire des coupes. La méthode des coupes est extrêmement délicate à employer avec les Mortiérellées et les auteurs qui, comme Léger, les ont pratiquées, n'en ont obtenu que de médiocres résultats. Brefeld n'indique rien sur son mode opératoire. J'ai essayé le mode de fixation assez simple, préconisé par Léger [18]. Il consiste à fixer les organes dans l'alcool où on les laisse séjourner pendant quelques jours; puis on les transporte dans un tube dans lequel on verse quelques centimètres cubes de collodion, de telle sorte que la préparation à inclure soit complètement recouverte, et on ferme le tube avec un bouchon dans lequel on a taillé une petite gouttière permettant la communication avec l'extérieur.

L'éther du collodion, en s'évaporant lentement, laisse une masse résiduelle contenant l'objet à étudier et que l'on peut alors facilement couper au microtome et colorer ensuite. Cette méthode, qui réussit bien pour les coupes de spores et de mycélium de Mucorinées, ne m'a pas donné de résultats convenables pour la recherche que je poursuivais.

J'ai essayé d'une autre méthode, plus longue et plus minutieuse peut-être, et qui en me donnant un meilleur résultat, m'a permis de faire quelques dessins à la chambre claire. Malheureusement, ces préparations ne se conservent pas, et la difficulté réside toujours pour ces opérations, dans la délicatesse des tissus sur lesquels on opère, et que le rasoir le meilleur écrase toujours plus ou moins.

Je fixe les tissus, y compris les spores, chlamydospores et zygospores, en les laissant séjourner un temps variable soit dans le liquide de Flemming, soit dans le picroformol. Je les retire ensuite et les lave d'abord à l'alcool faible iodé, puis à des alcools de plus en plus concentrés, jusqu'à l'alcool absolu. Je les laisse vingt-quatre heures dans l'alcool à 90°, quarante-huit heures dans l'alcool absolu. Je les passe ensuite dans le chloroforme pur, après les avoir ainsi déshydratés, puis dans le chloroforme paraffiné. Enfin, pour l'inclusion définitive, je les laisse

Digitized by Google

dans la paraffine pure à l'étuve, pendant cinq ou six heures. J'obtiens ainsi un bloc de paraffine dans lequel se trouvent enrobés les tissus à étudier. Je coupe au microtome et j'obtiens une série de coupes que je traite par les divers colorants et que je fixe, après les précautions d'usage, dans le baume de Canada.

Ce procédé est loin de donner des résultats parfaits, mais il permet néanmoins de se rendre compte de la structure de la zygospore (fig. 36).

La partie externe est très épaisse et ne présente pas une structure homogène. Sur la coupe, elle se montre formée par un feutrage serré laissant par places des espaces vides que le réactif n'a pas touchés. Elle a une épaisseur qui atteint presque le tiers du diamètre de la zygospore, et à l'intérieur, elle laisse voir son contenu, constitué surtout de gouttelettes huileuses séparées de la paroi externe par une membrane relativement peu épaisse.

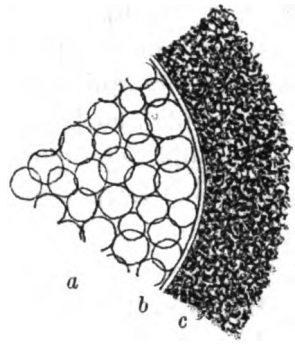


Fig. 36. — Coupe à travers la zygospore (une partie seulement a été représentée, gr. 170). — *a*, Gouttelettes huileuses; *b*, Membrane de l'œuf; *c*, Enveloppe formée par les filaments vides de protoplasma.

J'ai essayé de faire germer la zygospore, mais jusqu'à présent les procédés employés ne m'ont pas donné les résultats que j'espérais. Il est, en effet, extrêmement difficile de séparer complètement et rigoureusement la zygospore du buisson de filaments qui forme son enveloppe. Ou bien, la zygospore se brise sous le scalpel : les fragments qui en proviennent sont encore plus difficiles à séparer de leur enveloppe, et alors le développement, s'il a lieu, ne peut pas être attribué nécessairement à l'œuf lui-même; ou bien, la zygospore ne se brise pas, et il est difficile d'affirmer que l'enveloppe externe plus ou moins cutinisée à l'extérieur n'a pas emprisonné dans ses mailles une spore ou une chlamydospore qui, elle, germera, et pourra faire croire à la germination de la zygospore.

J'ai tourné la difficulté en cherchant les conditions dans lesquelles la zygospore pourrait résister, tandis que les filaments mycéliens ou les spores et les chlamydospores seraient

Digitized by Google

tués. Ces dernières, ainsi que le mycélium, séjournant dans de l'acide chlorhydrique à 1/1000 ne perdent pas la faculté de germination. Plongées pendant vingt-quatre heures dans l'acide chlorhydrique à 1/100, ni les uns ni les autres ne peuvent germer. J'ai donc laissé séjourner des zygospores pendant plusieurs jours dans de l'acide chlorhydrique au 1/100, de façon à tuer les spores et les filaments. Dans ces conditions les zygospores ensemencées m'ont donné un mycélium normal et non pas immédiatement des sporanges, comme le dit M. Van Tieghem à propos du *Mortierella nigrescens*. Je n'ai pas cependant la prétention d'infirmer les conclusions de ce savant en ce qui concerne la germination de la zygospore ; il est possible que la zygospore emprisonne dans les mailles de sa capsule des spores qui résistent à l'agent destructeur employé et je ne peux pas encore affirmer que dans les conditions où les zygospores se trouvaient placées, ce sont les œufs qui ont germé.

MM. Van Tieghem et Le Monnier ont obtenu la germination de la zygospore de *Mortierella nigrescens* [7], et ont observé que la germination de cet œuf donne lieu à un sporange. Brefeld qui a observé la zygospore de *Mortierella Rostafinskii* [8] « a vainement attendu une véritable germination de la zygospore ». Au bout de quelques mois les capsules étaient fanées et brisées ; le contenu de la spore jaunissait et la spore elle-même mourait. Lorsqu'on avait débarrassé avec précaution une centaine de zygospores de leurs capsules avant de les semer, le résultat était identique, les spores mouraient. En laissant les spores sur le substratum où elles avaient pris naissance, on n'obtenait aucun résultat.

En laissant les zygospores se reposer pendant quelques temps, Brefeld n'obtenait pas de meilleurs résultats et il émettait l'idée que peut-être les zygospores peuvent avoir perdu généralement toute faculté de germination [8], (page 88).

Renonçant pour le moment à la possibilité de voir germer la zygospore obtenue, j'ai cherché à découvrir sans aucune préparation, par le seul examen microscopique, la formation de cette zygospore si rarement entrevue chez les Mortiérellées. Il n'est guère possible de chercher à assister à cette formation

Digitized by Google

en suivant le développement du *Mortierella* dans la cellule de Van Tieghem ; on peut voir parfois des filaments se renfler et venir s'accoler l'un contre l'autre, comme s'ils devaient se fusionner, mais le développement ne va pas plus loin et ne donne autre chose qu'un mycélium et des chlamydospores. Le seul moyen à employer, consiste à examiner très souvent un mycélium en voie de développement. J'ai observé ainsi, dans le seul but de voir la formation de la zygospore, plus d'un millier de préparations. A cet effet, on prélève aseptiquement une parcelle du mycélium et on l'examine sans aucune dissection, sans aucune préparation, sous le microscope à un fort grossissement. On peut, avec beaucoup de patience, découvrir, au milieu d'un mycélium extrêmement fin et délicat, des aspects différents de l'organe à étudier et les dessiner tels qu'on les rencontre.

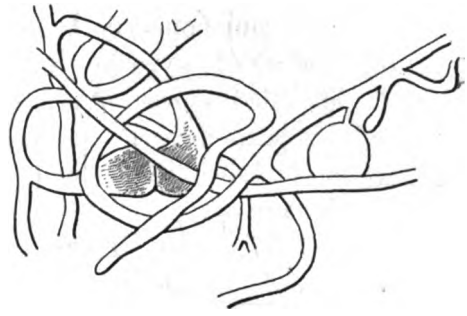


Fig 37. — Filaments renflés qui deviendront les gamètes et qui se montrent déjà accolés mais ne présentent pas encore de cloisons, gr. 750.

La difficulté est rendue plus grande par ce fait qu'avant la conjugaison des gamètes, les filaments qui vont s'unir sont déjà entourés d'un réseau plus ou moins serré de filaments qui vont se multiplier beaucoup pour protéger l'œuf dès qu'il sera formé.

J'ai pu suivre ainsi la formation de ces zygospores, et les dessins que je représente, dessinés à la chambre claire, indiquent les différents stades de la formation de l'œuf. Au milieu d'un réseau de filaments mycéliens déjà plus resserrés qu'ailleurs, on peut voir deux branches qui se dirigent l'une vers l'autre en renflant leurs extrémités et en se recourbant déjà en forme de crosses (fig. 37). Ce n'est pas toujours dans le voisinage des sporanges que se fait cette différenciation. Les deux branches copulatrices sont quelquefois de même taille, mais dans plusieurs cas observés, elles peuvent être légèrement différentes.

Ces deux branches sont remplies d'un protoplasma homo-

Digitized by Google

gène, peut-être un peu plus dense que dans les autres régions, et elles se séparent bientôt du reste du filament par une cloison qui va ainsi séparer les deux gamètes dont la fusion formera l'œuf (fig. 38). Lorsque les deux filaments arrivent en contact, ils n'ont pas toujours atteint leurs dimensions définitives et ils s'accroissent alors, tout en restant accolés, jusqu'au moment de la fusion des deux espèces de protoplasma. La cloison de séparation est difficile à apercevoir, car au moment de sa formation, les deux filaments qui vont se conjuguer sont déjà entourés d'un certain nombre de filaments issus soit de la base des deux gamètes, soit des filaments voisins; ces derniers se divisent et se ramifient tout autour des deux crosses, de sorte que l'observation en est de plus en plus difficile. Pendant un certain temps, les gamètes s'accroissent encore, tandis que leur protoplasma semble se contracter à l'intérieur : alors se fait la résorption de leurs cloisons en regard et la fusion des deux gamètes. En même temps, les filaments extérieurs se sont beaucoup ramifiés et il faut alors essayer soit le procédé des coupes, soit le procédé de l'écrasement pour observer l'œuf au moment où il vient de se former. A ce moment, il n'a pas encore sa forme définitive, mais peu à peu il va s'agrandir et s'arrondir en repoussant sa membrane contre l'enveloppe externe des filaments qui, de leur côté, en se divisant, se serrent les uns contre les autres, s'anastomosent et se fusionnent; ils finissent par former autour de l'œuf un feutrage très serré dont il est malaisé de le débarrasser. On comprend que dans ces conditions, il soit difficile, même dans les coupes les mieux faites et les plus réussies,

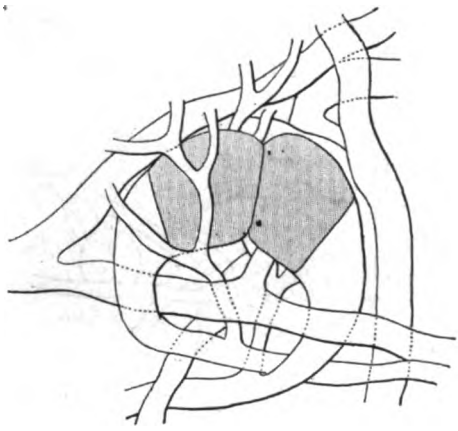


Fig. 38. — Deux gamètes, montrant la cloison qui les sépare du reste du filament. Ils ne sont pas encore fusionnés, mais se montrent déjà entourés de quelques filaments protecteurs (Obj. immersion, gr. 780).

Digitized by Google

de pouvoir distinguer nettement les restes des deux filaments copulateurs (fig. 39). Après la conjugaison, ces deux branches doivent disparaître au milieu des autres filaments, comprimées par suite du développement considérable des rameaux protecteurs. Il me paraît impossible qu'elles puissent conserver à la fois leur forme et les dimensions qu'elles avaient au moment de la conjugaison. Du reste, MM. Van Tieghem et Le Monnier, qui ont suivi le développement de la zygospore de *Mortierella nigrescens*, indiquent bien dans leur mémoire que le dessin qu'ils en donnent représente une coupe théorique.

Fig. 39. — Œuf formé observé après l'écrasement de la préparation. — On distingue les restes des deux gamètes à travers le feutrage très serré des filaments mycéliens, gr. 750.

En résumé, j'ai rencontré dans le *Mortierella polycephala* les organes reproducteurs suivants :

1° Les chlamydospores aériennes pédicellées, échinulées, que M. Van Tieghem désigne sous le nom de stylospores ;

2° Des chlamydospores sessiles ;

3° Des sporangiospores;

4° Des kystes (chlamydospores aquatiques) ;

5° Des zygospores.

J'ai essayé, selon la méthode indiquée par M. Blakeslee [30], de rechercher si le *Mortierella polycephala* est homothallique ou hétérothallique. A cet effet, j'isolai successivement *une* spore et *une* chlamydospore, je les transportai aseptiquement dans un tube contenant de la gélose et j'observai le développement.

Les zygospores se forment toujours sur milieu glucosé en même temps que les sporanges soit à partir de la spore, soit à partir de la stylospore. On peut donc affirmer que le *Mortierella polycephala* est homothallique. Comme la plupart des Mucorinées sont hétérothalliques, le *Mortierella polycephala* se placerait à côté de *Sporodinia grandis* et de *Spinellus fusigera* parmi les espèces des Mucorinées considérées comme homothalliques par l'auteur américain [30].

Dans l'état actuel de mes recherches, je n'ai pas encore pu obtenir d'une façon sûre la germination des zygospores; je ne

Digitized by Google

peux donc pas dire, comme MM. Van Tieghem et Le Monnier, si elles germent en donnant un sporange, et par conséquent si le *Mortierella polycephala* présente dans son développement une alternance de générations, ou si, comme le prétend Brefeld, ce sont des organes ayant perdu toute faculté de germination. Peut-être un peu plus tard, quand mes recherches sur ce sujet seront plus avancées, pourrai-je, en tout état de cause, formuler une opinion s'appuyant sur des faits précis. Je me suis borné pour l'instant à chercher dans quelles conditions peuvent se former ces différents organes et ce sont ces recherches que je vais maintenant exposer.

Digitized by Google

2° Influence des conditions physiques extérieures sur la croissance et sur la formation de l'appareil reproducteur du Mortierella polycephala.

A ma connaissance, il existe peu d'ouvrages qui traitent de la biologie des Mortiérellées. A part les mémoires justement réputés de MM. Van Tieghem et Le Monnier sur les Mucorinées (et ils traitent des Mucorinées en général, et non pas spécialement des Mortiérellées), il existe un bon travail de Hans Bachmann, publié dans les *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik* du professeur Pringsheim, en 1900. Bachmann étudie une nouvelle espèce, *Mortierella Van Tieghemi* [44], au double point de vue morphologique et physiologique, et les résultats qu'il donne sont intéressants à plusieurs points de vue.

Une condition primordiale, dans ces questions de physiologie, est d'obtenir des cultures pures; la nécessité n'en est plus à démontrer et il faut de toute façon les réaliser avant de pouvoir formuler des conclusions de quelque valeur. Telle culture pure qui, d'ordinaire, produit un mycélium abondant et un appareil fructifère complet et bien développé, peut, dans les mêmes conditions physiques ou chimiques, donner un mycélium très misérable et un appareil fructifère très réduit ou même très modifié, si la culture est envahie par les bactéries ou des moisissures. J'ai plusieurs fois obtenu, par accident, des cultures semblables.

Technique et choix du milieu de culture.

Toutes mes cultures ont été réalisées dans des tubes de Roux, dans des ballons Pasteur, des boîtes de Pétri, etc., stérilisés à l'autoclave à 120°. Quand j'ai voulu faire des cultures en grandes surfaces, j'ai toujours pris soin de stériliser la coupelle à l'autoclave après l'avoir flambée ; l'assiette contenant la coupelle était elle-même flambée au bec Bunsen, ainsi que le

Digitized by Google

disque de verre qui devait la recouvrir; puis la coupelle était elle-même introduite aseptiquement dans l'assiette remplie du milieu nutritif approprié, puis stérilisée de nouveau à 120° et ensemencée.

J'avais à faire choix d'un milieu qui pût me servir dans toute la suite de mes études; je pouvais choisir un milieu liquide ou un milieu solide; j'essayais dans ce but des milieux liquides. Le liquide Raulin, formé d'eau (2000), de sucre (70), d'azotate d'ammoniaque (3), d'acide tartrique (2), et de traces de phosphate d'ammoniaque, de carbonate de potasse, de chaux et de magnésie, n'est pas propice à la germination des spores du *Mortierella polycephala* et je n'obtenais aucun résultat. Je simplifiais la composition du milieu en ne prenant que de l'eau, du sucre, de l'azotate d'ammoniaque et de l'acide tartrique à peu près dans les mêmes proportions, mais en faisant varier la proportion de l'un de ces corps; ces essais préliminaires ne me donnèrent rien et ne servirent qu'à me démontrer que si la composition chimique du champignon se ramène à quelques éléments (comme le carbone, l'oxygène, l'azote, l'hydrogène), il ne suffit pas de lui fournir ces éléments à l'état de sels minéraux ou de composés organiques, il faut encore, ou bien les lui fournir en présence d'un substratum solide sur lequel il puisse développer son mycélium ou bien lui fournir ces aliments sous une autre forme chimique.

Sur un substratum solide, formé de silice gélatineuse imprégnée de ces divers liquides, je n'obtins pas davantage de résultat et je renonçai à ces milieux tout artificiels pour adopter un milieu mixte formé à la façon des milieux Sabouraud, et comprenant :

Eau 500 grammes, peptone (toujours de la même marque) 3gr,5, gélose 7gr,5, sucre 18gr,5.

Un pareil milieu est, grâce à la gélose, solide jusque vers 50° et plus, tandis que la gélatine se liquéfie à une température plus basse; de plus, il n'est pas assez solide pour que le mycélium ne puisse s'étendre à l'intérieur, et quoique sa préparation soit un peu longue, c'est presque toujours ce milieu que j'ai employé, à cause de sa composition chimique qui ne se modifie pas. En tout cas, il est assez facile de varier

Digitized by Google

la proportion de l'élément sucré, ou même de le remplacer par un autre sucre (tous les autres éléments restant fixes), et d'étudier ainsi l'influence soit du milieu, soit des conditions extérieures, et de comparer les résultats obtenus.

J'ai opéré de diverses façons ; chaque fois que j'ai pu le faire, j'ai fait, heure par heure, mes observations en cellule de Van Tieghem. Quand je ne pouvais pas cultiver en cellule et que l'expérience portait sur une grande surface, j'observais macroscopiquement et je notais au fur et à mesure les indications que me fournissait l'examen attentif du mycélium, soit à l'œil nu, soit à la loupe. De temps en temps, je prélevais en des points différents de la culture, des fragments de mycélium que j'observais ensuite au microscope et que je dessinais à la chambre claire. Je pouvais ainsi me rendre compte de la durée de germination (1), de la croissance plus ou moins rapide du mycélium, de l'apparition, de la forme et des dimensions de l'appareil fructifère, des filaments mycéliens, et comparer ainsi les résultats obtenus dans les diverses circonstances où j'opérais. Mes expériences étaient répétées plusieurs fois dans les mêmes conditions et c'est toujours après en avoir vérifié les résultats que je les notais.

Dans les boîtes de Pétri en milieu gélosé, on peut ensemencer aseptiquement en touchant le point central du substratum avec un fil de platine portant quelques spores. La germination des spores a lieu en général au bout de quelques heures, mais il est évident qu'on n'assiste pas à la germination comme dans une cellule de Van Tieghem ; les premiers stades de la germination passent donc inaperçus, et la croissance du champignon ne devient sensible que lorsque les filaments mycéliens commencent à s'étaler en se ramifiant autour du point ensemencé. A partir de ce moment, le mycélium s'accroît régulièrement, et s'étend sous la forme d'un fin duvet dont on peut suivre la marche progressive vers les bords de la boîte. Tant que ces bords ne sont pas atteints, il se ramifie très peu dans l'air, et les filaments,

(1) Pour abréger, je désigne par les mots « durée de germination », le temps qui s'écoule depuis l'ensemencement jusqu'à l'apparition des premiers filaments qu'on peut observer facilement à la loupe ou même à l'œil nu.

Digitized by Google

s'ils se dressent à ce moment, sont toujours stériles. Le mycélium apparaît donc comme un fin réseau appliqué contre le substratum et forme autour du point primitivement touché, une tache qui gagne d'heure en heure les bords du récipient. Le cercle ainsi tracé par le champignon est parfaitement marqué et délimité, et rien n'est plus facile que d'en mesurer le diamètre pour se rendre compte de la vitesse d'accroissement du mycélium. Quoi qu'il en soit, l'allure plutôt lente avec laquelle le mycélium s'étend dans une boîte de Pétri semble bien loin des affirmations de certains auteurs qui prétendent que toute une serre peut être envahie par les *Mortierella*, et les plantations compromises dans l'espace de quelques heures. Je prends comme exemple une culture faite dans le but de vérifier une dernière fois des résultats observés précédemment.

Le 27 janvier, j'ensemençais, comme il est dit plus haut, une boîte de Pétri en touchant avec le fil de platine le centre de la partie nutritive. J'obtenais les résultats suivants à la température moyenne de 16°.

Le 28 janvier	à	4 heures de l'après-midi, le mycélium apparaissait, autour du point ensemencé, sous la forme d'un fin duvet, arrondi en forme de cercle dont le diamètre était de			1 mm.
» 29	—	à 8 h. du soir, la plage mycélienne s'étendait sur un diamètre de			1 cm.
» 30	—	8 h. du matin,	»	»	1c,8
	—	8 h. soir,	»	»	2c,0
» 31	—	8 h. matin,	»	»	2c,5
	—	midi,	»	»	2c,8
	—	8 h. soir,	»	»	3c,0
» 1er février	à	8 h. matin,	»	»	3c,5
	—	midi,	»	»	3c,8
	—	8 h. soir,	»	»	4c,2
» 2	—	8 h. matin,	»	»	4c,5
	—	midi,	»	»	5c,0
	—	8 h. soir,	»	»	5c,2
» 3	—	8 h. matin,	»	»	5c,9
	—	midi,	»	»	6c,0
	—	8 h. soir,	»	»	6c,5
» 4	—	8 h. matin,	»	»	6c,9

A midi, les bords de la boîte de Pétri étaient atteints et le mycélium commençait alors à se développer franchement en hauteur, d'abord sur les bords où les parois de la boîte semblaient servir de supports aux filaments qui allaient y

Digitized by Google

adhérer; puis le développement gagnait de proche en proche le centre de la culture, et bientôt toutes les parties du substratum étaient couvertes par le mycélium formant une sorte de gazon d'une blancheur éclatante. Tant que le mycélium n'avait pas atteint les bords de la boîte et ne s'élevait pas dans l'air, les filaments restaient stériles et les fructifications y étaient peu abondantes; mais lorsque les filaments commençaient à se dresser avec abondance, les chlamydospores d'abord, puis les sporanges et parfois les zygospores faisaient leur apparition et il était aisé de s'en rendre compte par l'examen microscopique.

Ainsi donc, dans une boîte de Pétri, la vitesse d'accroissement du mycélium est assez lente puisqu'il faut au moins neuf jours pour qu'il couvre toute la surface du substratum. On peut représenter cette vitesse en fonction du temps suivant le mode graphique adopté par les physiciens et on a la courbe suivante sur laquelle les temps sont portés en abscisses, et le diamètre mesuré des plages mycéliennes en ordonnées :

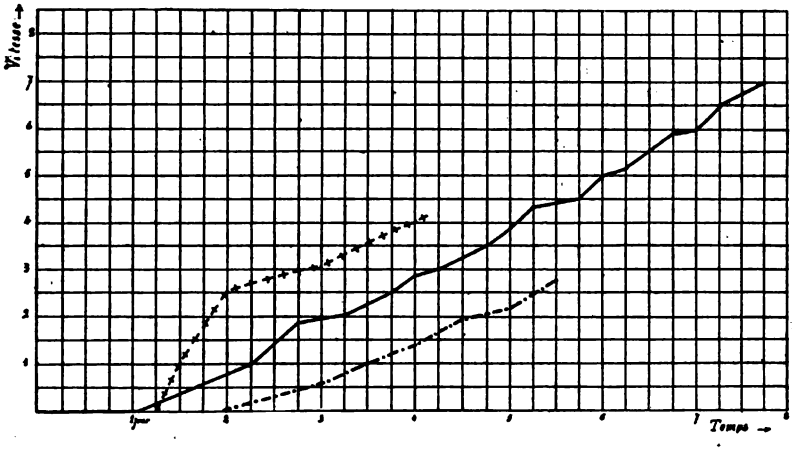


Fig. 40. — Courbes permettant de comparer la vitesse d'accroissement du mycélium dans des cultures sur gélose, faites :

1° En boîte de Pétri ————————
2° En tubes de Roux —·—·—·—·—
3° En ballons Pasteur +++++++

On peut voir, d'après l'allure générale de cette courbe, que le développement, lent d'abord pendant les deux premiers jours, prend ensuite une allure très régulière, et que l'alternance du

Digitized by Google

jour et de la nuit ne semble pas avoir d'effet bien marqué sur l'accroissement du mycélium.

Dans un tube de Roux de 2 centimètres de diamètre, et où le substratum s'étendait à partir du point touché sur une longueur de 4 centimètres, j'observais les faits suivants :

Le tube était ensemencé par contact le 10 janvier à dix heures du soir; quarante-huit heures après, j'observais l'apparition macroscopique des premiers filaments mycéliens; soixante-douze heures après, ils s'étendaient sur un diamètre de 6 millimètres ; le lendemain ils occupaient une surface de 12 millimètres de diamètre.

Dans un ballon Pasteur, les premiers filaments mycéliens apparaissaient à peu près dans le même temps que dans une boîte de Pétri, environ trente-six heures après l'ensemencement; puis ils s'étalaient à la surface du milieu et je notais les chiffres suivants :

Le milieu était ensemencé le 9 janvier à 8 heures du soir :
Les filaments apparaissaient le 11 à 8 heures du matin, formant une plage très peu étendue.

Le 11 à 8 h. soir, le mycélium s'étendait sur une plage de...	1 centim.
» 12 à 8 h. matin, » »	2°,5
» 13 à 8 h. soir, le mycélium commençait à se développer dans l'air et présentait une plage de.....	3 centim.
» 14 à 10 h. soir, » »	4 —

Le ballon n'étant pas plus large de diamètre, la culture s'élevait rapidement dans l'air et les fructifications se développaient partout abondamment.

Si la durée de germination est sensiblement la même, on voit donc, à la seule inspection des courbes précédentes, que la forme du récipient dans lequel se fera la culture ne sera pas à négliger et que les résultats, pour être comparables, devront provenir d'observations faites dans les mêmes appareils. Si, dans le ballon Pasteur, la croissance est plus rapide dès le début, on peut, sans crainte de se tromper, attribuer ce fait au volume plus grand de l'air qui surmonte le substratum.

Influence de la température.

L'influence de la température a été étudiée par quelques auteurs, Klebs, Siebenmann, Bachmann, Elfving, etc. Pour Siebenmann [27] qui a étudié *Eurotium repens*, *Aspergillus flavus*,

Digitized by Google

Aspergillus niger (Sterigmatocystis nigra), *Aspergillus fumigatus*, etc., la température pour laquelle la croissance du champignon paraît se faire dans les conditions les meilleures, est 10 à 15° C. pour l'*Eurotium repens* qui meurt vers 25°. D'après Elfving [27 *bis*], l'optimum de température est de 20 à 25° pour l'*Eurotium herbarium*. De même J. Olsen, qui considère *Eurotium repens* comme une variété de *Eurotium herbarium*, prétend que, au delà de 30°, ce champignon ne se développe plus.

Klebs, qui a étudié à ce point de vue *Eurotium repens, Mucor racemosus* et *Sporodinia grandis*, prétend que l'espèce étudiée par lui se comporte autrement que ne l'indique Siebenmann. Il donne comme minimum une température voisine de 7°, comme température optima 27-29° et comme température maxima 37-38°. Cependant il indique qu'il n'a pas poussé l'étude au delà de cette dernière température, de telle sorte que nous sommes indécis sur la température maxima à laquelle peut croître *Eurotium repens* [23].

Bachmann, qui a étudié à ce sujet *Thamnidium elegans* et *Mortierella Van Tieghemi*, donne comme températures minima, optima et maxima, 0°,27° et 31° pour le premier; et 15° (opt.), 20° (max.) pour le *Mortierella Van Tieghemi* pour lequel il n'a pas recherché le minimum [28] [44].

On voit, d'après ce qui précède, que pour des espèces semblables, sinon identiques, les auteurs ne sont pas d'accord, ou que les résultats qu'ils donnent dépendent de la variété étudiée. J'ai donc été naturellement amené à diriger mes recherches dans le même sens en ce qui concerne *Mortierella polycephala*. J'ai pu étudier l'action des températures les plus basses et j'ai été à même de constater que ce facteur, s'il n'est pas prépondérant, intervient pour beaucoup dans la germination, la croissance et la fructification du champignon.

J'ai recherché si des spores de *Mortierella polycephala* pouvaient germer à la température de l'air liquide, et si elles gardaient leur faculté de germination. Je plongeais à cet effet des tubes de gélose et de carottes préalablement ensemencés, dans un ballon de Dewar à air liquide. On sait que ces ballons, à double enveloppe argentée intérieurement et entre lesquels on a fait le vide, peuvent conserver l'air liquide pendant cinq

Digitized by Google

à six jours, si la température extérieure ne dépasse pas une quinzaine de degrés C., pendant plus longtemps, si la température extérieure est plus basse. J'ai conservé à plusieurs reprises un de ces ballons pendant huit jours, les tubes de culture plongeant à l'intérieur de l'air liquide, c'est-à-dire soumis à une température d'environ 180° au-dessous de zéro. Naturellement, comme on pouvait s'y attendre, aucune germination ne s'est produite pendant ce temps, mais il est intéressant de constater qu'après un pareil traitement les spores et les chlamydospores ont pu germer, un peu lentement, il est vrai, et donner un mycélium tout aussi riche et tout aussi abondant que dans les conditions ordinaires. J'ai constaté la présence des premiers filaments mycéliens au bout de huit jours seulement. C'est dire que si ce froid considérable n'a pas tué les spores, il a eu au moins pour résultat d'en retarder considérablement la germination lorsqu'elles ont été replacées dans les conditions ordinaires.

J'ai étudié de même l'action de la température obtenue par un mélange réfrigérant (sel marin et glace) qui abaisse la température à — 12°. Tant que cette température a été maintenue aussi basse, aucune germination ne s'est produite, mais lorsque les tubes ont été replacés dans les conditions ordinaires, la germination s'est produite, avec un retard moindre que précédemment. Elle a eu lieu en général au bout de cinq à six jours.

J'ai obtenu des résultats identiques avec des cultures soumises à la température moyenne de — 4° ; pendant les derniers jours de décembre 1907, où la température extérieure s'est maintenue pendant près d'une semaine au-dessous de 0° et a oscillé entre 0° et — 7 ou — 8°, les tubes ensemencés et exposés au dehors n'ont pas germé, pas plus que des cultures que j'ai maintenues à la température constante de la glace fondante pendant plus de quinze jours. Dans tous les cas précédents, après avoir constaté l'insuccès de la germination, j'ai placé ces tubes dans mon laboratoire à la température de 15° C. L'effet général et régulier de ces basses températures est, d'abord d'empêcher la germination, tant que les cultures y sont exposées, puis de retarder la germination quand elles sont replacées dans les conditions ordinaires; le retard est d'autant plus

Digitized by Google

grand que la température à laquelle elles ont été soumises a été plus basse et que son action s'est fait sentir plus longtemps.

Les cultures ainsi traitées donnent, après quelque temps, un mycélium assez abondant, dont le protoplasma dégénère très rapidement en gouttelettes d'huile, en même temps que les tubes mycéliens présentent de place en place des cloisons. Les fructifications sont réduites à des chlamydospores échinulées assez abondantes, avec grosses masses huileuses réfringentes ; elles sont de dimensions très variables, portées à l'extrémité de courts pédoncules ; on trouve quelques chlamydospores mycéliennes. On ne voit pas de sporanges, même au bout d'un mois ; il semble que si la germination n'a pas été empêchée par l'abaissement de la température, la circulation protoplasmique n'a pas été assez active ou du moins s'est trop vite ralentie pour que ces organes puissent se produire. Le champignon devient « vieux » de bonne heure. Le diamètre des chlamydospores échinulées peut varier depuis 7 à 8 μ jusqu'à 20-22 μ; les filaments mycéliens ont un diamètre qui varie entre 2 et 3 μ. D'une façon générale, les tubes mycéliens sont peut-être plus gros et les chlamydospores plus petites que lorsque le champignon pousse à la température ordinaire.

J'employais, pour étudier l'action de températures plus élevées, une étuve à manchon d'eau chauffée au gaz d'éclairage et réglable à volonté. J'examinais les cultures plusieurs fois par jour et je notais le moment où apparaissait le mycélium, sa vitesse d'accroissement, enfin j'examinais régulièrement au microscope l'apparition des fructifications.

Voici, par exemple, pour ces températures supérieures à 0°, les résultats obtenus dans une de mes dernières séries d'expériences.

Des spores et des chlamydospores ont été ensemencées dans une demi-douzaine de tubes à gélose, à la température moyenne de 4° C., le 23 janvier 1907 à dix heures du soir, et examinées régulièrement plusieurs fois par jour. Le 24, on n'a rien observé ; le 25, rien encore ; le 26, à minuit, on a commencé à apercevoir à la loupe les premiers filaments mycéliens, indice macroscopique du début de la germination, que l'on pouvait suivre dès lors à l'œil nu. Le 27 au soir cette petite plage mycé-

Digitized by Google

lienne n'avait qu'un centimètre et demi de diamètre et l'accroissement était si lent que le 31 janvier, c'est-à-dire huit jours après l'ensemencement, le mycélium rampant, peu dressé, couvrait à peine une surface de 1 centimètre de diamètre. Le 2 février, c'est-à-dire dix jours après l'ensemencement, la surface couverte avait 1^{cm},5 de diamètre. Si l'on compare cette vitesse d'accroissement à celle d'une culture faite à 20°, on voit qu'elle est environ trois fois plus faible.

Au microcospe, on voyait un mycélium à filaments très fins, à protoplasma granuleux dans les parties jeunes, trabéculaires, dans les parties âgées, avec nombreuses gouttelettes huileuses. Les fructifications étaient très peu abondantes au bout de dix jours ; c'étaient des chlamydospores échinulées, portées à l'extrémité de filaments de 1 ou 2 μ de diamètre, quelquefois très longuement pédicellées et dont le diamètre variait de 17 à 20 μ, quelquefois plus. On y trouvait des chlamydospores mycéliennes, sessiles, pas encore de sporanges ni d'œufs.

J'ai donné plus haut l'allure générale du développement du *Mortierella polycephala* à la température de 15° C. (fig. 40).

A la température de 22°, la germination se fait un peu plus rapidement : des tubes de gélose étaient ensemencés le 3 janvier à midi, et montraient déjà un commencement de mycélium, vingt-huit heures après ; un jour plus tard, le mycélium présentait une surface large de 1 cm. ; deux jours après, il s'étendait sur une surface de 4 cm. ; au bout de sept jours, la plage mycélienne était de 6^{cm},5. On trouvait alors comme fructification des chlamydospores échinulées de 16 à 17 μ de diamètre ; les filaments avaient un diamètre de 2 μ environ.

A la température de 25°, les spores germaient au bout de seize heures.

A la température de 27° les spores et les chlamydospores germaient au bout de douze heures exactement.

Étant données les conditions identiques du milieu dans lesquelles elles ont toujours été placées, c'est le temps minimum que j'ai observé pour la germination des spores de *Mortierella polycephala* en milieu gélosé ; et c'est certainement cette température de 27° C. qui est l'optimum pour la germination de ce champignon. Les tubes mycéliens ont un diamètre de 1 à 2 μ;

Digitized by Google

les chlamydospores ont les dimensions ordinaires, environ 20 μ. Ce qu'il y a de remarquable dans la croissance du champignon à cette température, c'est que très rapidement, au bout de cinq à six jours, les filaments mycéliens très développés s'étendent dans tout le tube et continuent malgré cela à s'accroître, se serrant de plus en plus les uns contre les autres au point de former une sorte de feutrage assez résistant que le fil de platine a de la peine à pénétrer. Au bout de quinze jours, les seules fructifications que l'on rencontre sont des chlamydospores échinulées; il n'y a pas encore trace de sporanges. Il est probable que l'énorme développement du mycélium est une condition très défavorable pour leur formation ; il entraîne en effet une diminution considérable de l'espace dans lequel les filaments sporangifères pouvaient se dresser et, par suite, leur suppression.

A la température de 32°, les spores germent encore mais seulement au bout de dix jours, et le mycélium est très misérable.

A partir de cette température, les conditions sont mauvaises pour la germination. Elles sont d'autant plus mauvaises que la température s'élève. Les spores soumises à la température de 38° ne germent pas à l'étuve; elles gardent encore leur faculté de germination, mais germent au bout de cinq jours. A 45° et à des températures supérieures, les spores de *Mortierella polycephala* sont tuées.

Dans les essais de culture à ces températures, les semis étaient maintenus plusieurs jours et même plusieurs semaines à l'étuve. Je les y maintenais d'autant plus longtemps que la température était plus élevée ; non seulement les spores ne germaient pas, mais les cultures ne réussissaient pas mieux lorsqu'après ce traitement, mes tubes étaient placés de nouveau dans les conditions ordinaires.

Il est donc évident pour moi que les spores sont tuées à partir de la température de 40°.

Le tableau suivant résume les indications précédentes.

Digitized by Google

TEMPÉRATURE	DURÉE de germination.	MYCÉLIUM	FRUCTIFICATIONS
Au-dessous de 0°.	Pas de germinat.	»	»
0°	Id.	»	»
4°	3 jours.	Peu abondant.	Chlamyd. échinul.
10°	Id.	Id.	Id.
15°	2 jours.	Normal.	Chlamyd. échinulées et lisses, sporanges, œufs.
22°	1 jour 6 heures.	Id.	
27°	12 heures.	Très abondant, très serré.	Chlamydospores.
30°	4 jours.	Id.	Id.
38°	Ne germe pas.	»	»
45°	Id.	»	»
50°	Id.	»	»

On peut représenter graphiquement ces résultats en prenant comme axe des abscisses la température et comme axe des ordonnées la durée de la germination.

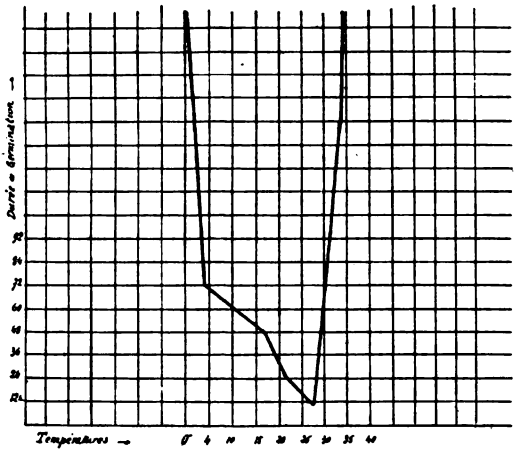


Fig. 41. — Courbe indiquant la durée de la germination en fonction de la température.

En rapprochant dans un tableau comparatif ces résultats de ceux obtenus pour d'autres Mucorinées, on voit qu'il serait bien téméraire d'en tirer une conséquence générale, dans l'état actuel de nos connaissances, sur la physiologie des champignons. Tout ce qu'on peut en déduire, c'est que les conditions minima, maxima et optima de température sont variables pour chaque espèce. Pour le *Mortierella polycephala,* les sporanges se forment bien entre 10 et 25° avec un optimum vers 17°. Les

Digitized by Google

ESPÈCES	OPTIMUM 0° C.	MINIMUM	MAXIMUM	AUTEURS
Mucor racemosus.....	20-25	4	32-33	Klebs.
Sporodinia grandis ...	21-24	1-2	29-30	»
Thamnidium elegans.	27	0	31	Bachmann.
Mortierella Van Tiegh.	15	?	20	»
— polycephala.	17	4	27	J. Dauphin.

chlamydospores se forment bien dans les limites où le mycélium lui-même peut se développer, c'est-à-dire entre 3-4° et 28-29°.

Les zygospores se forment bien entre 15-22° C.

Il résulte de ce qui précède que les sporanges ne se forment qu'entre 15° et 25 à 30°. Faut-il admettre que cela est dû, comme le dit M. Van Tieghem, « à ce que les branches rampantes du mycélium n'étant ni trop serrées, ni trop enchevêtrées, peuvent respirer à l'aise et trouver dans l'atmosphère qui les entoure une quantité suffisante d'oxygène à consommer; ou bien à une insuffisance de nutrition, soit que le milieu se trouve lui-même peu nutritif, soit que les tubes s'y pressent et s'y enchevêtrent en trop grand nombre » [6] (p. 98)? Les stylospores se développent, d'après le même auteur, lorsque le mycélium, très largement nourri et très vigoureux, forme une trame épaisse où l'activité respiratoire diminue bientôt la proportion d'oxygène contenue dans l'atmosphère confinée où végète la plante.

Faut-il, comme Klebs l'indique pour le *Mucor racemosus* et le *Sporodinia grandis* [23] [24], attribuer seulement une faible importance à l'action de l'oxygène, ou ne pas lui en attribuer du tout et considérer que cette formation est due plutôt à l'état hygrométrique de l'air? Le *Sporodinia grandis* forme des zygotes lorsque l'humidité est 95 à 100 p. 100; quand l'état hygrométrique varie de 45 à 80 p. 100, il donne des sporanges; de 80 à 95 p. 100, il forme à la fois les deux espèces de fructifications et l'auteur conclut qu'un ralentissement de la transpiration produit des zygotes, que l'accélération du même phénomène produit des tubes sporangifères. Un autre facteur considéré par Klebs est l'insuffisance de nourriture. Une nutrition peu abondante conduit au même but que la transpiration, si elle n'agit pas d'une manière aussi active : mais l'auteur con-

Digitized by Google

sidère comme tout à fait secondaire l'action de l'oxygène.

N'est-il pas logique cependant d'admettre que l'oxygène étant un aliment pour le champignon comme pour les autres végétaux, l'absence d'oxygène peut être considérée comme un manque de nourriture. C'est ce que M. Van Tieghem laisse entendre quand il parle de l'insuffisance d'oxygène. Ces deux expressions doivent aller ensemble si l'on admet que l'oxygène est un aliment indispensable pour le champignon. C'est la conclusion que je tire de mes différentes expériences sur le *Mortierella polycephala*. Ni la diminution de la transpiration, ni le ralentissement de la respiration du *Mortierella polycephala* ne sont un facteur essentiel de la formation des tubes sporangifères.

Je les ai vus se former le plus souvent quand il y avait manifestement insuffisance de nourriture, par exemple dans des milieux ne contenant que de l'eau et de la gélose, et cela presque à l'exclusion des autres formes fructifères. Mais je les ai vus se former en grande quantité en même temps que les chlamydospores aériennes, dans des milieux très nutritifs et dans des cas où l'on ne pouvait invoquer ni l'insuffisance de nourriture, ni l'accélération de la transpiration.

Il est fort probable, que ces causes extérieures doivent agir sur les phénomènes intracellulaires. Ils modifient l'activité du protoplasma, et les actions chimiques encore mal connues, qui se produisent dans son intérieur, doivent apporter des changements considérables dans sa circulation et dans la pression osmotique : c'est là seulement qu'il faut aller chercher les raisons déterminantes de la formation des sporanges et des stylospores, ainsi que de toutes les formes fructifères. Tout ce qui, d'une façon ou d'une autre, pourra modifier la vie intérieure protoplasmique, amènera nécessairement des modifications dans l'appareil fructifère.

Influence de la lumière.

Les auteurs (1) qui ont étudié la biologie des champignons accordent en général une très faible importance à l'action de la lumière. C'est pourquoi dans la bibliographie on ne trouve relativement que peu d'ouvrages traitant de la question. Selon

(1) De Bary [4], Brefeld [8], Klein [3], Sorokine [38], Efving [27 bis], Lendner [25], etc.

Digitized by Google

les auteurs on peut admettre que la lumière peut ou ne peut pas avoir d'action sur le développement des spores. En règle générale, on admet que la lumière agit pour modifier la longueur des filaments fructifères [25] (p. 7).

Les influences varient suivant les genres, et les auteurs étudiant la même espèce indiquent parfois des résultats différents. Cela tient probablement à ce que les auteurs, ou bien n'ont pas fait de cultures pures, ou bien n'ont pas étudié toujours les mêmes espèces, ou bien n'ont pas attribué d'importance à la nature du milieu nutritif.

Comme les auteurs cités, j'ai étudié l'action de la lumière sur le *Mortierella polycephala*, mais j'ai pu pousser plus loin l'étude des diverses radiations en examinant l'influence que pouvaient avoir sur le champignon des radiations de diverses natures, telles que les radiations de faibles longueurs d'onde, les radiations X, les radiations émises par les corps radioactifs.

Alfred Lendner, dans son travail sur les « *Influences combinées de la lumière et du substratum sur le développement des champignons* », dit que, sur les champignons à conidies, il peut « y avoir deux manières d'être » [25] (p. 61) :

1° En cultivant tous ces champignons (*Mucor flavidus*, *Rhizopus nigricans*, *Mucor racemosus*, *Mucor Mucedo*, *Thamnidium elegans*, *Pilobolus*, etc., etc.) derrière les différents verres colorés ou derrière les solutions, sans les éclairer pendant la nuit, o les voit former partout des conidies au bout du même nombre de jours. Les actions du jour et de la nuit se contrecarrent.

2° En lumière continue, l'influence varie suivant les espèces. L'obscurité semble aussi défavorable qu'une trop vive lumière. Ceci a lieu par exemple pour *Sterigmatocystis nigra* et *Botrytis cinerea*. Pour d'autres, tels que *Amblyosporium*, ces différences de conditions lumineuses n'influent en rien sur le développement.

J'ai expérimenté sur le *Mortierella polycephala* pour rechercher l'action des différentes radiations ; j'ai employé la méthode des écrans absorbants. Dans une cuve de verre, de 5 centimètres d'épaisseur, à bords parallèles, j'ai placé la solution absorbante après l'avoir examinée au spectroscope.

J'ai tout d'abord essayé de dégager l'influence que peut avoir sur la croissance du champignon l'alternance d'éclairement qui

Digitized by Google

provient de la succession du jour et de la nuit, et pour cela j'ai commencé par cultiver le *Mortierella polycephala* à l'obscurité complète.

On peut dire d'une façon générale, que dans ces conditions d'absence complète de lumière, la germination se fait plus tardive ; la croissance est moins active que dans les conditions ordinaires.

Dans les tubes de Roux, j'ai noté la marche de la croissance en marquant jour par jour le diamètre de la plage que présente le mycélium à la surface du milieu nutritif.

L'ensemencement étant fait dans les conditions ordinaires, à la température de 17° C., le champignon germe au bout de deux jours et demi. Le mycélium se développe lentement, d'abord sous forme de filaments rampants à la surface du milieu nutritif.

Il présente, trois jours après l'ensemencement, un diamètre de 2 millimètres; le quatrième jour le diamètre est à peine de 4 millimètres ; le cinquième jour le développement prend une allure un peu plus rapide : à huit heures du soir, le mycélium présente un diamètre de 1 centimètre ; vingt-quatre heures après il s'étend jusqu'à 1^{cm},6 ; à partir de ce moment il gagne les bords du tube et commence à dresser ses filaments en hauteur contre la paroi de verre. Au bout de quinze jours, le mycélium est très peu développé ; les filaments sont clairsemés, assez rares ; au microscope, on voit les fructifications, qui sont des stylospores très nombreuses, et des sporanges encore en petit nombre.

Dans une boîte de Pétri, le développement semble se faire plus facilement que dans les tubes de Roux. Le substratum est toujours constitué par la gélose peptonisée sucrée. Le développement a lieu à la température de 17°. Dans une dernière série d'expériences, j'ai obtenu les résultats suivants :

La culture est ensemencée le 4 décembre à sept heures du soir. La germination se fait et les filaments se montrent macroscopiquement le 7 au matin. A partir de ce moment, elle est observée régulièrement et je note :

				Diamètre.
7	décembre à	8 h.	du soir, le mycél. s'étend sur une surface de...	1^{c},0
8	—	8 h.	»	1^{c},9
9	—	8 h.	»	2^{c},8
10	—	8 h.	»	4^{c},2
11	—	8 h.	»	5^{c},3
12	—	8 h.	»	6^{c},5

A partir de ce moment, les filaments se dressent déjà au-dessus du substratum ; les fructifications sont abondantes,

Digitized by Google

les stylospores se montrent très nombreuses; les sporanges commencent à se développer; quelques jours après, les filaments remplissent complètement la boîte de Pétri.

Donc, le développement à l'obscurité complète n'est en somme que retardé par l'absence de lumière; il n'est influencé qu'au moment de la germination. Dans la suite du développement, il ne semble nullement gêné par le manque de lumière.

Cependant le mycélium est un peu plus réduit qu'à l'ordinaire et je n'ai pas observé la formation de zygospores.

Lumière continue.

J'ai observé le développement de *Mortierella polycephala* en lumière continue.

Les tubes de cultures sont éclairés par une bonne lampe à pétrole; quelques-uns sont placés à une distance de 50 centimètres, les autres sont éclairés par la même source dont les rayons sont concentrés par une forte lentille dans la chambre obscure où ils sont placés à une distance de 1m,50. La température est observée et se maintient constante pendant toute la durée des expériences; à 50 centimètres, elle est de 22°; à 1m,50, elle est de 17°. J'ai noté les faits suivants :

Le 18 octobre 1907, les cultures sont ensemencées dans la soirée et placées à 22° près de la lampe;

» 19	—	les premiers filaments mycéliens s'observent macroscopiquement;	
» 20	—	le mycélium s'étend sur une surface d'un diamètre de.	1c,9
» 21	—	à 8 h. du matin	2c,3
	—	midi	2c,5
	—	10 h. soir	3c,1
» 22	—	à 8 h. matin	3c,7
	—	midi	3c,7
	—	10 h. soir	4c,6
		Les filaments commencent à se dresser dans la partie inférieure du tube, vers le fond; ils sont encore stériles.	
» 23	—	à 8 h. du matin, la plage mycélienne s'étend sur	4c,8
	—	4 h. soir	5c,1
		L'examen microscopique montre quelques rares chlamydospores aériennes, lisses; elles n'ont pas encore d'exospore échinulée.	
	—	10 h. soir, le diamètre mycélien est de	5c,3
» 24	—	à 8 h. du matin il est de	5c,6
	—	8 h. du soir	5c,8
		Le mycélium atteint le fond du tube, il se développe un peu en hauteur. Au microscope, on voit des chlamydospores échinulées et d'autres en voie de formation, de différents diamètres; elles sont peu nombreuses relativement à celles qu'on trouve au même moment dans les cultures témoins. On ne voit pas de sporanges.	

Digitized by Google

Le 25 octobre 1907, le mycélium s'est à peine accru en hauteur; les filaments sont très serrés les uns contre les autres; les chlamydospores échinulées sont encore peu abondantes; il n'y a pas de sporanges.
» 26 — la culture est restée stationnaire.
» 27 — le mycélium est encore peu développé en hauteur; les filaments sont abondants, mais très courts, serrés les uns contre les autres en une sorte de feutrage épais.
» 27 — les fructifications sont représentées par des chlamydospores échinulées et lisses. Il n'y a pas de sporanges.

Dans les tubes qui sont à $1^m,50$ de la lampe, la germination a été un peu plus lente; les tubes ensemencés comme les précédents, le 18 octobre à 10 heures du soir, ont germé le 20 au matin.

Le 20 à 10 h. du soir la plage mycélienne s'étendait sur une longueur de $1^c,0$
» 21 à 8 h. du matin ..... $1^c,2$
— midi ..... $1^c,5$
— 10 h. soir ..... $1^c,9$
» 22 à 8 h. matin ..... $2^c,3$
— midi ..... $2^c,4$
— 8 h. soir ..... $2^c,8$
» 23 à 8 h. matin les filaments commençaient à se dresser et s'étendaient sur une longueur de ..... $3^c,4$
— 4 h ..... $3^c,7$
L'examen microscopique montrait quelques rares chlamydospores échinulées et *quelques sporanges*.
— 10 h. soir, la plage mycélienne était de ..... $4^c,2$
» 24 à 8 h. matin ..... $4^c,7$
— 8 h. soir ..... $5^c,4$
Les sporanges se développaient et mûrissaient; il y avait peu de chlamydospores échinulées;
» 25 le mycélium atteignait le fond du tube; il se développait en hauteur, et ici encore, on pouvait voir nettement les filaments dirigés vers la lumière. Ils se développaient rapidement;
» 27 ils remplissaient le tube, s'appuyant contre la paroi de verre opposée au substratum; la croissance se faisait normalement : on trouvait dans les cultures des chlamydospores échinulées et lisses, des sporanges et des œufs comme à l'ordinaire.

J'ai refait d'autres expériences, mais cette fois en employant la lumière électrique fournie par une lampe à incandescence de 32 bougies, placée à 20 centimètres des tubes de culture, et fonctionnant nuit et jour dans un cabinet noir. D'autres tubes étaient placés à 1 mètre et d'autres à 3 mètres de la même lampe; la température était de 20° près de la source lumineuse.

Les cultures ensemencées le 23 janvier germent au bout de vingt-quatre heures.

Digitized by Google

Le 25 janvier, les filaments rampant à la surface du milieu nutritif s'étendent sur une surface de 1 centimètre de diamètre;
» 26 — la plage mycélienne est de 2cm,3 de diamètre.
Puis le développement est un peu plus rapide:
» 27 — les filaments occupent une surface de 5 centimètres de diamètre;
» 28 — ils occupent tout le tube, soit une longueur de 5 centimètres et demi sur le substratum; en même temps ils commencent à se dresser;
» 30 — tout le tube est envahi par un mycélium abondant, mais formé de filaments assez espacés, à l'aspect laineux. Au microscope on voit des filaments irréguliers, remplis de gouttelettes huileuses, presque stériles. Les fructifications, en petit nombre, sont réduites à quelques chlamydospores lisses et échinulées; il n'y a pas de sporanges.

Les filaments observés quelques jours après ne présentent pas plus de fructifications; ils sont presque stériles, peu abondants, dressés vers la lumière; il n'y a que des chlamydospores, pas de sporanges ni d'œufs.

Les cultures placées plus loin ont donné des fructifications normales; la germination s'est faite un peu plus lentement, mais j'y ai observé des chlamydospores, des sporanges et des œufs.

La courbe suivante résume graphiquement les faits qui précèdent, en ce qui concerne la durée de la germination et l'accroissement du mycélium.

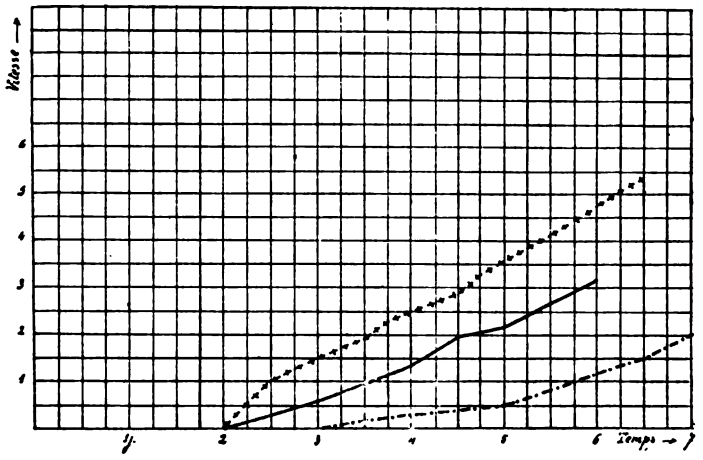


Fig. 42. — Courbes montrant la vitesse d'accroissement du mycélium :
1° En lumière alternée (————)
2° A l'obscurité complète (—.—.—.)
3° En lumière continue (+++++)

On peut donc conclure des faits observés et de la comparaison de ces courbes d'accroissement, que :

Digitized by Google

1° *Le* Mortierella polycephala *est sensible à l'action de la lumière.*

En prenant, comme terme de comparaison, le développement en lumière alternée ordinaire (jour et nuit), on peut dire que :

2° *Le* Mortierella polycephala *germe plus lentement à l'obscurité, qu'il s'y accroît moins vite, mais que les fructifications ne sont pas modifiées ; il produit d'abord des stylospores, puis des sporanges;*

3° *Le développement à la lumière continue se fait plus vite; le champignon donne moins de fructifications que dans les conditions ordinaires; les filaments sont presque stériles, ils ne donnent que des chlamydospores.*

4° En ce qui concerne le développement à la lumière continue, la *germination est d'autant plus rapide que l'intensité de lumière est plus grande;* il semble donc que la germination et l'accroissement sont d'autant plus rapides que l'éclairement devient plus fort; en revanche, les conditions sont alors moins favorables pour le développement de l'appareil fructifère, qui est moins abondant et formé surtout par des stylospores, tandis qu'un éclairement continu plus faible favorise l'apparition des sporanges et des œufs.

5° En ce qui concerne les dimensions des filaments et des appareils fructifères, on peut dire que sous ce rapport le *champignon est indifférent* ; je n'ai pas constaté de différences appréciables entre les chlamydospores, les sporanges et les spores formés soit à l'obscurité, soit à la lumière continue, soit dans les conditions ordinaires.

Action des radiations diverses.

Lendner, dans son étude sur le développement des champignons [25], dit que toutes les Mucorinées étudiées (*Mucor Mucedo*, *Thamnidium elegans*, etc.), développent partout des sporanges sur des milieux solides. Une différence ne se fait sentir que dans la longueur des filaments sporangifères, qui peuvent être du double plus longs dans l'obscurité, la lumière rouge et la lumière jaune. Les sporanges sont très souvent portés sur des pieds ramifiés.

Digitized by Google

Pour étudier l'action des diverses radiations sur le développement du *Mortierella polycephala*, j'opérais de la façon suivante. Je plaçais les tubes de culture ensemencés dans une chambre noire fabriquée dans ce but et présentant une fenêtre de 14 centimètres de large sur 17 centimètres de long. La chambre elle-même avait les dimensions suivantes : 25 centimètres de hauteur, 15 centimètres de profondeur, 20 centimètres de largeur. Elle était hermétiquement fermée, mais son volume était assez grand pour que dans les diverses expériences, les séries de 4 ou 6 tubes que j'examinais trouvassent dans l'atmosphère de cette chambre la quantité d'air qui leur était nécessaire; du reste, je l'ouvrais régulièrement pour mes observations macroscopiques et microscopiques et l'air se trouvait, par cela même, suffisamment renouvelé dans cette enceinte complètement fermée. La fenêtre était munie intérieurement d'une glissoire dans laquelle on pouvait placer une cuve rectangulaire de 3 centimètres d'épaisseur remplie de la solution absorbante.

Les cultures étaient faites toujours en série double: l'une des séries était soumise à l'action des radiations différentes, l'autre se développait à l'air libre dans les conditions ordinaires. Le milieu employé était toujours la gélose peptonisée glucosée et la température moyenne 17°.

Mes premières expériences ont été faites avec l'eau comme écran absorbant.

On sait que l'eau arrête les radiations infra-rouges et ultra-violettes; beaucoup de matières colorantes se dissolvent dans l'eau et sont employées à l'état de solutions aqueuses comme écrans absorbants. Il était intéressant de voir comment se comportait le *Mortierella polycephala* derrière un écran constitué uniquement par l'eau.

Deux jours après l'ensemencement, on peut observer le mycélium à son début; le développement est le même qu'à la lumière diffuse. Cinq jours après, les filaments commencent à se dresser et à se tourner vers la lumière. Ils ne portent pas encore de fructifications, mais se montrent héliotropiques positivement. Les filaments ont une direction sensiblement horizontale, ils se montrent tous parallèles entre eux comme

Digitized by Google

un gazon à son début. Si l'on déplace les tubes de culture de façon que les filaments soient tournés vers la paroi obscure de la chambre, on observe, deux ou trois heures après, qu'ils se sont recourbés et dirigés de nouveau vers la lumière.

Les fructifications sont les mêmes que dans les conditions ordinaires.

Action des radiations rouges et infra-rouges.

Comme écran absorbant j'ai employé une solution d'iode dans le sulfure de carbone ; la solution examinée au spectroscope ne laissait passer que l'infra-rouge et le rouge avec un peu d'orangé ; elle absorbait toutes les autres radiations, même les radiations ultra-violettes.

Deux séries de culture étaient préparées, les unes que je soumettais à l'action de la lumière diffuse modifiée par l'écran, la fenêtre de la chambre obscure étant tournée vers l'extérieur ; les autres que je soumettais à l'action de la lumière ordinaire.

Dans les cultures témoins, le champignon, ensemencé le 19 novembre 1907, a germé très rapidement (au bout de quarante heures), et on a pu, à partir de ce moment, observer à la loupe ou à l'œil nu les phases du développement qui s'est fait régulièrement.

Dans les tubes de culture soumis à l'expérience, il n'en était pas de même. Le 23 on n'observait rien ; au bout de quatre jours, les premiers filaments apparaissaient ; le 25, le mycélium s'étendait sur une surface de 4 millimètres de diamètre ; le 26, la plage mycélienne, s'étendait sur une surface de $1^{cm},2$ et les filaments commençaient à se dresser contre les parois du tube. Le développement se faisait alors comme d'habitude et quoique le mycélium fût plus réduit, les fructifications apparaissaient bientôt. C'étaient des stylospores dont le diamètre variait de 15 à 25 et même 30 μ ; et des sporanges renfermant de 18 à 20 spores, de dimensions ordinaires ; la dimension des tubes sporangifères n'avait rien de remarquable.

Il faut donc conclure de là que *les radiations calorifiques à elles seules retardent la germination et que les radiations de plus faible longueur d'onde et en particulier les radiations bleues, violettes et ultra-violettes ont une certaine influence dans la germination* du *Mortierella polycephala*. Sans ces dernières,

Digitized by Google

la germination se fait plus lentement, comme à l'obscurité.

Il est possible qu'il en soit ainsi, car des cultures faites en lumière modifiée d'autre façon par des absorbants convenables, ne sont que très faiblement influencées.

Action des radiations plus réfrangibles (bleu, violet, ultra-violet).

Lorsque l'écran absorbant est constitué par du sulfate de cuivre ammoniacal qui ne laisse passer que les radiations à partir du bleu, et arrête les radiations calorifiques, en même temps qu'une partie des radiations violettes, on peut remarquer que le *Mortierella polycephala* se développe presque normalement.

Une culture en tube de Roux ensemencée sur gélose le 31 octobre à 9 h. du soir et placée derrière l'écran absorbant m'a donné les résultats suivants :

Le 2 novembre, le soir, le mycélium apparaît.

» 3	—	il s'étend sur une surface de.....	9mm de diam.
» 4	—	à 11 h. du matin....	1c,4 —
» 4	—	à 7 h. du soir.....	1c,7 —
» 5	—	à 7 h. du soir.....	2c,8 —
		A ce moment les filaments se dressent et ne s'allongent plus vers le fond du tube.	
» 9	—	c'est-à-dire quatre jours après, les filaments remplissent tout le tube; mais l'examen microscopique montre qu'ils sont encore stériles; on y voit quelques rares chlamydospores échinulées.	
» 10	—	on peut apercevoir par places des groupes de filaments plus ou moins renflés qui sont le début des sporanges; il y a encore peu de chlamydospores.	
» 11	—	onze jours après l'ensemencement, on trouve des sporanges comme dans les cultures ordinaires, mais les tubes sporangifères sont plus minces tout en étant aussi allongés; les sporanges et les spores n'ont rien de particulier.	

Au bout de 20 à 25 jours, les chlamydospores sont très nombreuses et de grosseur très inégale; on en trouve qui ont 25 à 30 μ de diamètre.

Quand l'écran absorbant est constitué par de l'éosine en solution alcoolique, on ne remarque rien de particulier, les cultures se développent comme à la lumière ordinaire.

Le permanganate de potassium, en solution dans l'eau, absorbe les radiations comprises entre les raies D et F.

Les tubes gélosés ensemencés le 25 janvier à quatre heures et placés derrière une pareille solution, germent deux jours après ; le 27 janvier à quatre heures on voit apparaître les premiers filaments; le lendemain matin, le mycélium s'étend sur une surface de 1cm,1, le soir sur une étendue de 1cm,8 ; le 29, la plage mycélienne est de 2cm,2 et les filaments commencent à se dresser vers la lumière ; le lendemain leur étendue est de 3cm,5 de diamètre, et le 31 ils

Digitized by Google

remplissent tout le tube, soit une surface de $4^{cm^2},5$. Mais ils sont déjà à ce moment très développés et le mycélium examiné au microscope, présente les fructifications ordinaires : stylospores, sporanges et œufs.

J'ai employé aussi comme écran absorbant une solution de fluorescéine dans l'eau; examinée au spectroscope, elle ne laissait passer que des radiations rouges et orangées, ainsi qu'une partie de radiations violettes; mais d'autre part, c'est une substance fluorescente, et par cela même capable d'augmenter la longueur d'onde des radiations qu'elle reçoit elle-même. Il était intéressant de rechercher si elle aurait une action quelconque sur le développement du *Mortierella polycephala.*

Les tubes de culture ont été ensemencés le 15 janvier à 7 h. du soir.
Le 17, c'est-à-dire deux jours après, la germination a eu lieu, puis les jours suivants j'ai noté l'accroissement de la plage mycélienne.

Le 18, elle avait un diamètre de		.....	$1^c,2$
» 19,	—	.....	$2^c,2$
» 20,	—	.....	$3^c,7$
» 21,	—	.....	$4^c,8$

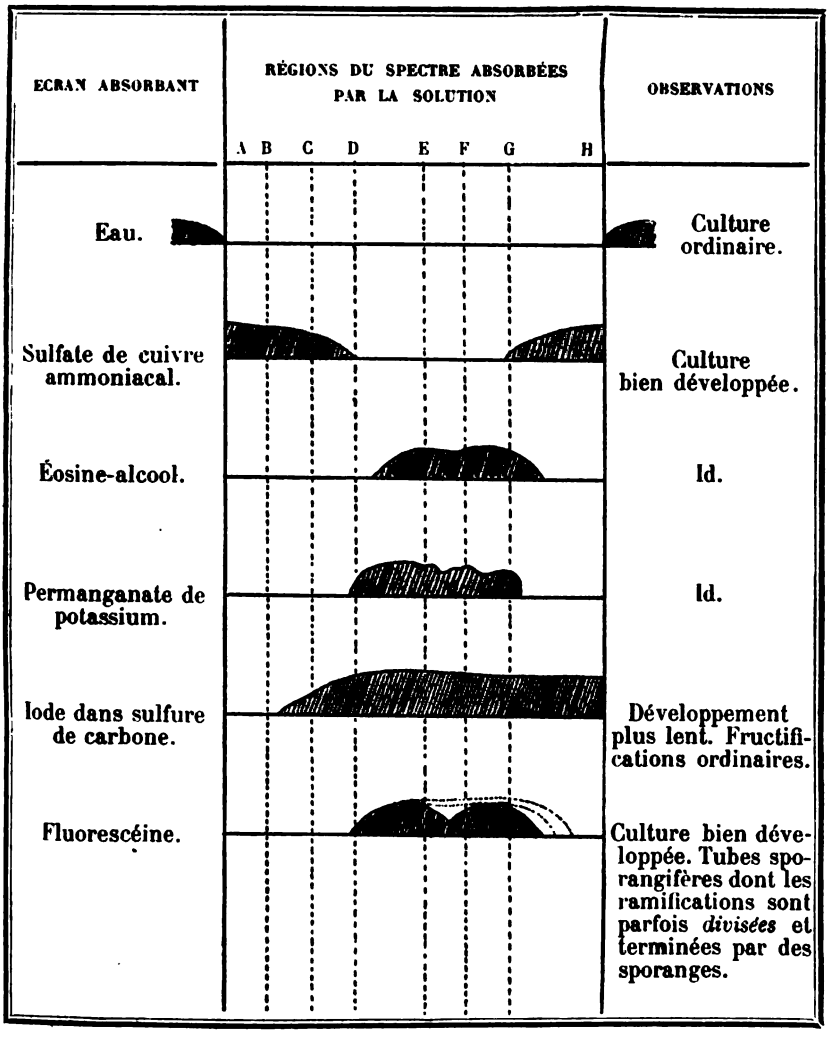
A ce moment, tout le substratum était couvert d'un fin duvet et le mycélium commençait à se dresser; deux jours après, l'examen microscopique montrait un mycélium abondant avec des chlamydospores dont quelques-unes étaient sessiles; elles étaient peu nombreuses; les tubes sporangifères commençaient à se former, assez nombreux ; ils se montraient très allongés, peu renflés; quelques-uns présentaient de petites ramifications bifurquées se terminant chacune par un sporange. J'ai rarement observé cette particularité chez le *Mortierella polycephala*, sauf dans certaines conditions de milieu. Le développement ultérieur ne présente rien de particulier; le mycélium devient très abondant et les fructifications très nombreuses comme lorsque le champignon se développe à la lumière ordinaire.

J'ai cultivé le champignon dans d'autres conditions d'éclairement, modifié par des écrans différents, mais je n'ai pas observé de particularités très intéressantes.

Le tableau suivant résume les observations précédentes (1) :

(1) Les régions du spectre absorbées sont indiquées par des hachures.

Digitized by Google



En résumé, on peut donc dire, que le *Mortierella polycephala* se montre en général insensible aux diverses radiations ; si la germination se fait parfois lentement, le champignon fructifie normalement et on ne trouve pas de différences bien tranchées entre ses différentes façons de se comporter. Le début du développement peut être retardé par certaines radiations. Le mycélium peut se développer moins abondamment qu'à la lumière ordinaire, mais, les fructifications sont normales et, sauf dans le cas où l'écran absorbant est la

Digitized by Google

fluorescéine, présentent les dimensions et les caractères ordinaires.

Le champignon paraît donc plus sensible à l'intensité qu'à la longueur d'onde des radiations lumineuses.

Action des rayons X.

Pour étudier l'action des rayons X sur le développement du *Mortierella polycephala*, j'ai utilisé les cultures en boîte de Pétri, sur milieu gélosé. Les cultures ensemencées étaient soumises immédiatement à l'action des rayons de Rœntgen obtenus à l'aide d'un courant électrique de 3 ampères passant dans une bobine de Ruhmkorff pouvant donner 15 centimètres d'étincelle. Le ballon dans lequel se produisaient les rayons X était placé à 1 centimètre de la boîte de Pétri et l'action s'exerçait dans mes diverses expériences pendant des temps qui variaient de cinq à vingt minutes.

Si l'action des rayons X est peu prolongée, le développement du *Mortierella polycephala* n'est pas influencé ; le champignon germe et se développe normalement. Si l'action se fait sentir pendant cinq minutes, dix minutes et davantage, le développement est ralenti et je suppose que si j'avais pu prolonger l'action pendant plusieurs heures, le développement eût été empêché. Des raisons d'ordre pratique ne m'ont pas permis de poursuivre l'expérience dans ce dernier cas. Voici par exemple les résultats d'expériences faites sur les cultures en boîtes de Pétri ensemencées uniformément avec un peu d'eau distillée contenant des spores.

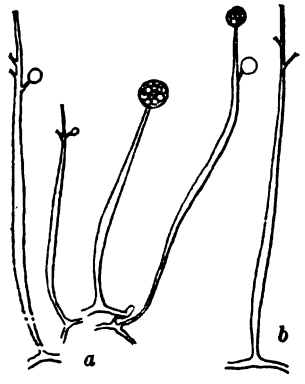


Fig. 43. — Tubes sporangifères développés sur gélose après que les spores ont été soumises à l'action des rayons X : ils sont à peine renflés ; gr. 110.

L'une des boîtes de Pétri a été soumise pendant cinq minutes à l'action des rayons X ; la germination a eu lieu quatre jours après ; le cinquième jour, les filaments mycéliens commençaient à apparaître, mais étaient peu développés ; ils l'étaient davantage sur les bords ; le sixième jour, les filaments se dressaient, ils étaient bien développés, excepté au centre, dans la partie qui avait été plus spécialement soumise à l'action des rayons X ; le septième jour

Digitized by Google

le mycélium était très abondant, mais à peine marqué au centre par un fin duvet. Au microscope, on voyait des filaments très réguliers, des chlamydospores lisses peu nombreuses. Il n'y avait pas encore de sporanges, pas de chlamydospores échinulées. Le huitième jour, le mycélium s'accroissait encore et continuait à fructifier. Il y avait très peu de chlamydospores échinulées; les sporanges commençaient à se développer ; quelques-uns étaient déjà mûrs, mais formés à l'extrémité de filaments à peine renflés, si bien qu'on aurait pu les prendre pour des chlamydospores en formation si l'on n'avait pas remarqué *in situ* les sporanges avec leurs spores (Fig. 43).

Dans la culture soumise plus longtemps à l'action des rayons X (pendant vingt minutes), la germination a eu lieu plus tard.

C'est le cinquième jour après l'ensemencement que les premiers filaments apparaissaient. Au milieu de la culture il n'y avait rien. L'examen microscopique ne permettait pas de déceler un commencement de germination ; sur les bords de la boîte se dressaient les filaments très ténus, assez rares ; ils portaient quelques chlamydospores échinulées et des chlamydospores mycéliennes ; le sixième jour et les jours suivants, le mycélium se développait très peu et les fructifications étaient peu abondantes.

On peut donc conclure des faits qui précèdent que l'action retardatrice des rayons X sur la germination est nettement marquée; les spores, placées très près du ballon où se produisent les radiations de Rœntgen, ne germent pas ; celles qui sont situées plus loin germent mal et se développent en conséquence.

Action des corps radio-actifs.

Ces résultats sont en rapport avec ceux que j'avais obtenus en étudiant l'action des corps radio-actifs sur le développement du *Mortierella polycephala*.

Depuis la découverte des corps radio-actifs on a beaucoup étudié les effets des radiations émises, soit sur les végétaux, soit sur les animaux.

M. G. Bohn avait présenté le 27 avril et le 4 mai 1903 deux notes à l'Académie des Sciences, sur « l'influence des rayons du radium sur les œufs vierges et fécondés et sur les premiers stades du développement » [29]. Il montrait que les rayons du radium agissent sur la chromatine du noyau et suivant la durée de l'exposition, augmentent son activité ou la détruisent. Cette note m'a suggéré l'idée de rechercher si les rayons Becquerel avaient une action sur le développement et la croissance des champignons inférieurs et spécialement des Mucorinées que

Digitized by Google

j'étudiais en ce moment. M. le professeur Curie, en mettant gracieusement à ma disposition un tube de radium, m'a permis de faire dans ce sens quelques recherches que j'ai continuées depuis, grâce à l'obligeance de Mme Curie et de son distingué chef des travaux pratiques à la Sorbonne, M. Debierne.

J'avais dès le début mis en étude des cultures de *Mucor circinelloides*, de *Thamnidium* et de *Mortierella*. Dans des tubes à essai sur un milieu nutritif (carotte) où d'habitude le développement se fait normalement, il était facile de voir que la croissance du champignon était gênée. Le substratum ensemencé régulièrement sur lequel on plaçait le tube de radium montrait un mycélium très abondant dans les parties les plus éloignées du tube actif. Il paraissait là très vigoureux, plus vivace que dans les tubes témoins, tandis qu'au voisinage du tube lui-même, le mycélium n'apparaissait pas. Dans la région voisine du tube on voyait une surface nue qui contrastait singulièrement avec l'extrémité du substratum où les filaments se montraient si vivaces. Dans les cultures en surface, dans des bottes de Pétri, on pouvait observer les mêmes faits que dans les cultures en tube.

L'action du radium ne se faisait pas sentir sur les bords de la culture; au contraire les filaments s'y montraient plus développés qu'à l'ordinaire ; ils fructifiaient ; mais à mesure qu'on s'approchait du centre, là où se trouvait placé le tube actif, les filaments étaient de plus en plus stériles, de plus en plus réduits et au centre même il n'y avait rien.

On n'observait rien de semblable dans une culture où se trouvait placé un tube de verre de même diamètre que celui qui contenait la substance radio-active. Il y avait donc là uniquement un effet dû à la radio-activité et il me paraissait dès lors intéressant de l'étudier de plus près.

Pour réaliser un ensemencement régulier du substratum placé dans des bottes de Pétri, je prélevais comme d'habitude à l'aide d'un fil de platine des spores d'une culture déjà bien développée et je les transportais aseptiquement dans un tube contenant une petite quantité d'eau distillée stérilisée. Je versais cette eau, tenant en suspension de nombreuses spores, sur le milieu gélosé que j'avais choisi comme milieu de culture. La

Digitized by Google

faible quantité d'eau que je jetais ainsi ne pouvait nuire au développement que j'examinais par comparaison avec d'autres cultures ensemencées de la même façon et non soumises au radium. L'ensemencement fait de cette manière était très régulier, les filaments poussaient uniformément.

Au milieu de l'une des boîtes de Pétri je plaçais le tube de radium ; au milieu des autres, je plaçais un tube de verre identique pour avoir des cultures témoins dans les mêmes conditions que la première. J'étais assuré que s'il devait y avoir plus tard des phénomènes à observer, le radium en serait la cause déterminante.

Dans une première série d'expériences, j'exposais immédiatement au radium une culture ensemencée le 13 décembre 1903.

Dans la culture témoin, le *Mortierella* se développait normalement et, au bout de cinq à six jours, donnait, en même temps qu'un mycélium touffu, des chlamydospores nombreuses. Le radium fut exposé dans l'autre culture pendant quatre jours ; dès le deuxième jour, le mycélium commença à apparaître à la surface du milieu nutritif et continua à se développer lentement les jours suivants ; mais, dès le début on distingua nettement tout autour du tube de radium une zone aride où rien n'apparaissait ; cette zone s'étendait jusqu'à une ligne bien marquée affectant la forme générale d'une ellipse dont le grand axe était dirigé selon la longueur du tube ; aux deux extrémités du tube la même zone aride était plus réduite et l'ellipse infléchie vers l'intérieur.

La forme particulière de cette zone tient évidemment à ce que le radium constitue lui-même un écran d'absorption pour ses propres radiations, et que les spores situées dans cette région avaient subi l'influence d'une moindre quantité de rayons actifs.

Le petit axe de cette zone aride présentait une longueur d'environ 2 centimètres ; autour de cette zone, on pouvait en remarquer une deuxième, un peu moins nette, où les filaments étaient à peine développés, et enfin au delà, les filaments aériens commençaient à se montrer et le développement se poursuivait normalement quoiqu'il se montrât très réduit comparativement à la culture témoin.

Les préparations faites avec des échantillons pris successivement à 1 centimètre du tube sur le bord de la zone aride, à $1^{cm},5$, à 2 centimètres, et à 3 centimètres sur le bord extérieur de la culture, et examinées au microscope, confirmaient bien ce que les premières cultures en tube avaient indiqué. Près du tube, les spores n'avaient pas germé, il n'y avait rien ; un peu plus loin, les filaments étaient misérables, peu abondants mais stériles ; un peu plus loin, les filaments présentaient des chlamydospores échinulées dont le nombre m'avait paru aller en décroissant de la zone aride à la périphérie de la culture. Il n'y avait pas de sporanges ni de spores lisses.

J'ai recherché si les spores de la zone aride, lesquelles n'avaient pas germé pendant les huit jours que dura cette première expérience, étaient tuées, ou bien si elles étaient restées à l'état de vie latente.

J'ai donc à cet effet prélevé aseptiquement en des points de plus en plus éloignés du tube de radium, dans la zone aride, des parcelles de milieu nutritif contenant des spores et je les ai transportées dans des tubes de bouillon gélosé.

Digitized by Google

Les spores provenant du centre de la préparation n'ont pas germé. Les autres semis ont mis quatre jours à germer, tandis que dans les conditions ordinaires, la germination se produisait dans les autres boîtes au bout de vingt-quatre heures. Peu à peu le mycélium s'est étendu et a couvert toute la surface du milieu nutritif en fructifiant comme à l'ordinaire.

Des résultats identiques ont été obtenus en répétant plusieurs fois ces mêmes expériences; l'influence de ces radiations, encore mal connues au point de vue biologique et que M. Becquerel, puis M. et Mme Curie ont dénommées les radiations α, β, γ, est d'autant plus grande sur le *Mortierella polycephala*, que la substance radio-active agit plus longtemps et à des distances moindres; elle est nettement paralysante et retardatrice.

Lorsque le *Mortierella polycephala* est cultivé en cellule de Van Tieghem, en présence des corps radio-actifs, les sporangiospores ne résistent pas à l'action paralysante du radium; elles ne germent pas ; mais les chlamydospores germent, plus lentement, il est vrai, et sans fructifier, tant que le radium agit sur le champignon (1).

J'ai voulu voir aussi l'action du radium sur le mycélium déjà développé et, à cet effet, j'ai préparé des cultures de *Mortierella* en cellule de Van Tieghem, dans les mêmes conditions que plus haut; j'ai observé, heure par heure, le développement d'*une* spore de *Mortierella* et j'ai pu la comparer à chaque instant à une culture semblable qui me servait de témoin. Au bout de deux jours les filaments mycéliens, peu ramifiés encore, s'étendaient sur une longueur d'environ 1 millimètre. C'est à ce moment que je plaçais le tube de radium dans l'une des cellules et que je le laissais agir pendant deux jours et plus. Pendant ce temps, les filaments de la culture témoin s'enchevêtraient, s'anastomosaient, s'accroissaient de façon à couvrir sur la lamelle une surface d'environ 0^cmq^,5. Au bout de cinq à six jours les stylospores apparaissaient.

En revanche, les filaments soumis à l'action du radium

(1) La dimension de la cellule que j'employais correspondait sensiblement à celles de la zone aride dont je parlais plus haut et il n'y avait rien d'étonnant au fait que les filaments restaient arides. Le tube de radium était placé près de la lame portant le substratum et parallèlement; il était posé sur un petit support en fil de platine stérilisé par l'incandescence et dans le fond de la cellule se trouvait de l'eau; sauf la présence du tube de radium, toutes les conditions habituelles de bonne germination étaient réalisées.

Digitized by Google

cessaient de s'étendre en surface ; ils ne s'allongeaient plus, et ne se ramifiaient presque plus. On observait dès les premières heures que la présence du radium apportait un trouble profond dans la vie du champignon ; la circulation protoplasmique, qui se faisait très régulièrement auparavant, devenait très irrégu-

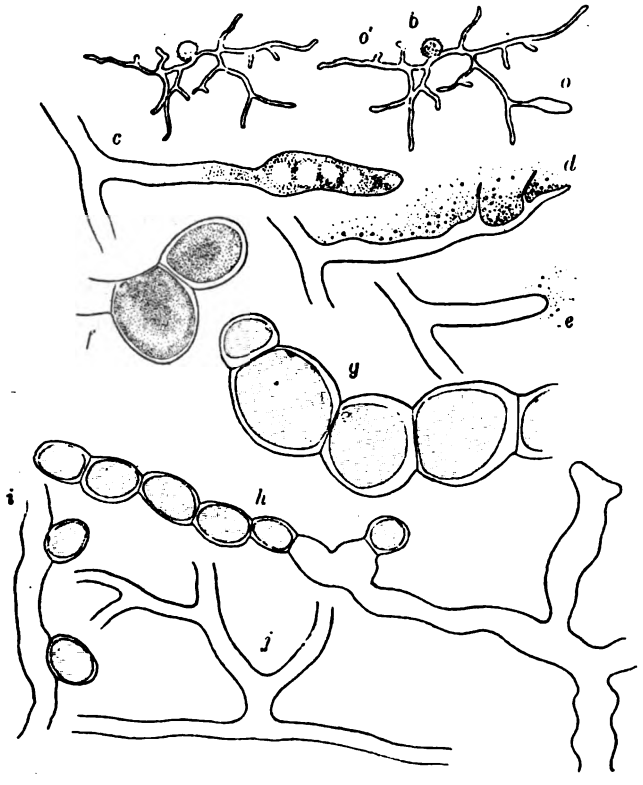


Fig. 44. — Influence du radium. — *a*, Aspect du filament avant l'action du radium, gr. = 110 (filament de deux jours) ; *b*, Aspect du filament après l'action du radium prolongée pendant vingt-quatre heures, gr. 160 ; *o'*, Filament modifié sous l'action du radium, une portion a été dessinée en *c*, *d*, *e*, à un plus fort grossissement, gr. 670 ; *d*, Filament ayant éclaté sous la pression interne et ayant reformé une membrane à l'extrémité ; *f*, *g*, *h*, *i*, Kystes formés sur les filaments dont on remarque l'irrégularité ; *j*, Filament ordinaire de *Mortierella*.

lière ; elle se faisait comme par saccades ; les filaments acquéraient par places un diamètre double ou triple de celui des filaments témoins. En certains endroits, ils présentaient des renflements caractéristiques à l'intérieur desquels le protoplasme se contractait ; les filaments se cloisonnaient ; en un mot, le *Mortierella* s'enkystait sous l'action du radium. En

Digitized by Google

d'autres points du mycélium peu développé, il arrivait souvent que la membrane se résorbait ou cédait sous la pression intérieure et le protoplasma se répandait au dehors sous la forme d'une multitude de fines gouttelettes huileuses, tandis qu'une nouvelle membrane se reformait très rapidement. La présence du radium accélérait l'apparition à, l'intérieur des filaments, de cette structure trabéculaire avec gouttelettes huileuses que présentent les vieux filaments (Fig. 44).

Lorsque l'action du radium n'était pas trop prolongée, le mycélium recommençait à croître et des bourgeons nouveaux apparaissaient.

Il ressort donc de ces expériences plusieurs fois répétées, que :

1° Les rayons du radium arrêtent la croissance du mycélium du *Mortierella* et empêchent la germination de la spore ; cette action est du reste simplement paralysante ;

2° Ils provoquent l'apparition de véritables kystes à l'intérieur des filaments ; ces kystes sont évidemment ici des organes de défense du végétal ;

3° Les spores et le mycélium soumis à l'action du radium ne sont pas tués ; ils sont à l'état de vie latente et, replacés dans des conditions normales, peuvent germer ou continuer à se développer à nouveau.

Dans le courant de 1906 et en 1907 j'ai poursuivi ces études.

J'ai recherché l'action que pouvait avoir sur la croissance du *Mortierella polycephala*, non plus les corps radio-actifs, cristallisés, mais l'air maintenu en contact avec une dissolution de ces corps, c'est-à-dire l'émanation.

J'ai ensemencé régulièrement des ballons Pasteur et immédiatement après j'ai fait le vide à leur intérieur ; puis j'y ai laissé rentrer de l'air qui était resté en contact pendant plusieurs semaines avec une dissolution de chlorure de radium renfermant 3 à 4 milligrammes de substance active. Les cultures de *Mortierella polycephala*, de *Sporodinia grandis*, de *Thamnidium* ne se développaient pas, tandis que les cultures témoins germaient au bout de deux jours dans l'air ordinaire.

Or. en ce qui concerne *Mortierella polycephala*, j'ai pu cons-

Digitized by Google

tater que la résistance des spores et des stylospores est très grande vis-à-vis des conditions extérieures atmosphériques; j'ai ensemencé des milieux gélosés dans des ballons Pasteur où je remplaçais l'air ordinaire par d'autres gaz tels que l'oxygène pur, l'oxygène ozonisé, le gaz carbonique, etc.; dans tous les cas, le champignon se développait très bien, et fructifiait normalement; je l'ai cultivé dans des atmosphères viciées par des vapeurs d'éther, de chloroforme, de sulfure de carbone, et le champignon s'est toujours bien développé. Il présente donc une résistance extraordinaire à ces agents extérieurs et il semble que l'action nocive de l'émanation ne puisse être mise en doute, car dans les cultures précédentes, même au bout de trois mois, je n'ai rien obtenu; or l'émanation ne conserve guère ses propriétés actives pendant plus de huit jours. J'ai retrouvé là les mêmes résultats, plus accentués, que j'avais déjà constatés avec le chlorure du radium lui-même.

J'ai essayé l'action de l'émanation sur des cultures en voie de développement. J'ensemençais un ballon Pasteur et je l'abandonnais à la température moyenne de 10° pendant huit jours; le champignon se développait lentement; au bout de ce temps les filaments étaient à peine dressés dans l'air, même dans la région voisine des parois du ballon; il y avait encore peu de fructifications : au microscope, on voyait quelques chlamydospores lisses et des stylospores; pas de sporanges. Je faisais le vide et je remplissais le ballon d'émanation provenant d'une solution contenant 1 milligramme de chlorure de radium; l'air rempli d'émanation avait séjourné dans le flacon à solution active pendant six mois. Dès que l'émanation était introduite, on voyait les filaments s'affaisser sur eux-mêmes et à partir de ce moment le développement était complètement arrêté.

Huit jours après, j'ai recommencé la même expérience avec une émanation un peu moins forte; l'air chargé d'émanation n'avait séjourné que huit jours en présence de la solution à 1 milligramme de chlorure de radium. Le champignon ensemencé s'était développé plus rapidement à la température de 18°, à l'étuve, et le mycélium, au bout de huit jours, était déjà bien dressé et commençait à fructifier. Dès que l'émanation fut introduite dans le ballon, les filaments cessèrent

Digitized by Google

de s'accroître, et la culture resta pendant plusieurs semaines dans un état stationnaire. L'examen microscopique montra au bout de quelques jours un mycélium vieux, des filaments remplis de gouttelettes huileuses; par places le protoplasma s'était condensé et des kystes s'étaient formés.

On retrouve les mêmes résultats, plus énergiques, déjà obtenus avec le chlorure de radium. Les expériences plusieurs fois répétées se montrent concordantes. Si l'on transplante alors des spores, qui ont subi l'action de l'émanation, sur un autre substratum, on constate qu'elles peuvent germer, mais plus lentement que les spores ordinaires; sur gélose, j'ai obtenu la germination de pareilles spores au bout de quatre jours.

On peut donc, en résumé, conclure de ce qui précède que l'action des corps radio-actifs est toujours nuisible pour le *Mortierella polycephala*; elle l'est d'autant plus que les spores ou le mycélium y sont exposés plus longtemps; l'émanation est plus nocive que le chlorure de radium lui-même, elle arrête immédiatement la croissance du mycélium, provoque son enkystement, et elle peut empêcher la germination des spores ou des chlamydospores si elle est suffisamment concentrée.

Influence de l'état hygrométrique.

J'ai cherché à réaliser des conditions d'humidité diverses en faisant varier l'état hygrométrique de l'atmosphère dans laquelle se développaient mes cultures pures.

Le dispositif que j'ai adopté est le suivant : les tubes de culture étaient mis sous une cloche dont les bords usés à l'émeri reposaient sur un plateau de verre; le contact plus parfait était obtenu au moyen de suif qui empêchait toute entrée d'air venant de l'extérieur. La partie supérieure de la cloche était munie d'une tubulure fermée par un bouchon de caoutchouc percé de deux trous par lesquels passaient deux tubes de verre, l'un descendant jusqu'au fond de la cloche, l'autre, débouchant vers la partie supérieure. Ce dernier communiquait avec un flacon à deux tubulures contenant de l'acide sulfurique concentré. L'autre tube était en communication avec la trompe

Digitized by Google

à eau. L'air aspiré se desséchait par son passage à travers l'acide sulfurique et au bout de trois ou quatre heures l'atmosphère de la cloche était plus ou moins complètement débarrassée de vapeur d'eau. On pouvait le constater à l'aide de l'hygromètre à cheveu placé à l'intérieur de la cloche; des robinets disposés sur le trajet des tubes permettaient d'arrêter à volonté le courant d'air et de régler ainsi l'état hygrométrique.

Dans une atmosphère complètement desséchée, je n'ai pas observé la germination des spores de *Mortierella polycephala*. J'ai pu maintenir l'air de la cloche dans le même état pendant quinze jours sans observer les moindres traces de germination.

Dans une atmosphère légèrement humide, l'hygromètre marquant 50°, soit dans une atmosphère à demi saturée de vapeur d'eau, la germination a eu lieu, et elle a donné au bout de trois jours un mycélium bien développé avec fructification normale, sporanges, stylospores.

Dans une atmosphère saturée de vapeur d'eau, pourvu que la vapeur en se condensant ne recouvrît pas complètement le milieu nutritif, la germination a eu lieu au bout de deux jours ; le mycélium s'étendait d'abord à la surface du substratum, puis, quand il était arrivé aux limites du tube, s'appliquait contre la paroi, s'élevait dans l'air et commençait à fructifier. Rarement les stylospores apparaissaient avant ce moment.

J'ai essayé les mêmes cultures en cellule de Van Tieghem. Dans le fond de la cellule, je plaçais quelques gouttes d'acide sulfurique et j'observais le développement jour par jour. Le milieu nutritif était une goutte de gélose peptonisée et sucrée, disposée sur la lamelle ; l'ensemencement était toujours fait aseptiquement dans deux cultures dont l'une servait de témoin. Au bout de vingt-quatre heures, on pouvait observer la germination des spores dans la culture témoin et au bout de huit jours, on y voyait apparaître des stylospores, alors que dans la cellule à acide sulfurique rien ne se produisait ; au bout de quinze à vingt jours, la germination ne se produisant pas, j'interrompais l'expérience.

Il faut donc conclure de là que dans un air complètement et rapidement desséché, la germination des spores du *Mortierella polycephala* ne peut pas se faire.

Digitized by Google

D'autre part, une atmosphère complètement saturée, sans empêcher la germination, gêne la croissance du champignon, qui s'accroît moins que dans l'atmosphère ordinaire des tubes de culture. Les gouttelettes d'eau résultant de la condensation de la vapeur d'eau dans l'atmosphère saturée tombent sur le mycélium et agissent probablement par leur poids pour en empêcher l'accroissement en hauteur et aussi en surface. J'ai observé généralement que l'optimum d'humidité est atteint lorsque l'hygromètre marque 95, c'est-à-dire un point très voisin de la saturation.

Il peut y avoir dans ce résultat une contradiction apparente avec ce qui se passe lorsqu'on fait la culture en chambre humide de Van Tieghem, où l'atmosphère est nécessairement saturée de vapeur d'eau. Mais la disposition prise dans ces cultures est telle que l'eau de condensation se dépose dans le fond de la chambre et sur la lamelle, et que de toute façon le mycélium dressé se développe sans être gêné. Du reste, je n'ai jamais obtenu dans les cultures sur milieu solide recouvert d'une légère couche d'eau qu'une germination très lente et un mycélium très misérable. La vapeur d'eau saturante est un bienfait pour le champignon, l'eau de condensation lui est nuisible.

J'ai expérimenté aussi avec des milieux humides obtenus à la manière de Klebs, qui consiste à recouvrir de collodion ces milieux de culture : je les ensemençais en piquant la couche solide formée après évaporation de l'éther et je constatais que dans l'air sec malgré l'humidité du milieu nutritif, la germination ne se faisait pas.

C'est donc bien l'humidité de l'air et non pas seulement l'humidité du substratum qui joue un rôle important dans le développement du champignon.

En résumé, le Mortierella polycephala *ne se développe et ne fructifie normalement que dans une atmosphère saturée de vapeur d'eau; l'humidité de l'air a plus d'importance pour la germination des spores que l'humidité du substratum*, quoique cette dernière ait aussi une certaine influence.

Digitized by Google

Influence de la pression atmosphérique.

On sait que les appareils conidiens (les stylospores) ne se forment généralement que dans l'air et jamais à l'intérieur du liquide, et l'opinion générale est que pour leur formation le mycélium a besoin d'oxygène et qu'il ne peut les produire dans un milieu où manque cet élément. S'il en est ainsi, tout champignon, ensemencé dans un milieu quelconque, en présence d'une atmosphère où l'oxygène sera raréfié, devra présenter, sinon une modification de la forme de ses conidies, tout au moins des variations dans leur formation, leurs dimensions, et dans l'aspect du mycélium sur lequel elles prennent naissance.

Klebs [23] trouve que pour l'*Eurotium repens*, la pression minima inférieure à laquelle se forment les conidies est de 3 ou 4 millimètres ; à cette pression, il admet que l'atmosphère ne contient guère plus de 0,14 p. 100 d'oxygène ou même moins, mais il n'attribue pas à la faible proportion d'oxygène la cause du retard dans la formation du mycélium et des conidies. D'autres circonstances, d'après lui, doivent agir d'une manière décisive.

Pour étudier l'influence de la pression sur la croissance du *Mortierella polycephala*, j'opère de la façon suivante : Dans un ballon Pasteur rempli de gélose sucrée, je fais l'ensemencement en touchant la partie centrale du mycélium et je mets le récipient ainsi préparé en communication avec la trompe à eau. Très rapidement le vide se fait à 1 ou 2 millimètres. Le ballon est alors séparé de l'air extérieur au moyen d'un caoutchouc à vide et d'une vis de pression, abandonné à la température du laboratoire, soit 17°, et examiné régulièrement. J'ai observé ainsi des cultures faites à 1 millimètre de pression, à 95 millimètres, à 150 et à la pression ordinaire.

J'ai opéré aussi à des pressions plus considérables : dans un ballon Pasteur, je comprimais de l'air à $1^{atm},5$, à 2^{atm} et à $2^{atm},5$, après l'avoir ensemencé.

Dans le vide de la trompe, des ballons Pasteur avec gélose sucrée ont été ensemencés le 26 janvier à midi. Les premiers jours, on n'observait rien de particulier ; le 31, un léger mycélium apparaissait ; il s'étendait d'abord assez rapidement et atteignait au

Digitized by Google

bout de quarante-huit heures une surface dont le diamètre était de 1 centimètre. A partir de ce moment, le thalle ne s'étendait plus en largeur ; il se dressait vers le haut, très peu, et cela pendant les trois premiers jours à partir de l'apparition du mycélium. Quinze jours après, la culture ne présentait pas de différence avec ce qu'elle était aux premiers jours du développement, et le mycélium, examiné à ce moment, montrait que les filaments étaient restés presque stériles ; ils portaient bien quelques chlamydospores aériennes, mais en très petit nombre ; les chlamydospores mycéliennes prédominaient avec quelques œufs, assez rares. On ne voyait pas de sporanges.

Dans d'autres séries de cultures, j'ai obtenu, dans le vide, des filaments présentant une absence presque complète des appareils reproducteurs qui n'étaient figurés que par quelques kystes et quelques zygospores.

A la pression de 95 millimètres, les premiers filaments ont apparu trois jours après l'ensemencement et quatre jours après recouvraient tout le substratum ; soit une surface de $4^{cm},5$ de diamètre. Le mycélium, au bout de quinze jours, était à peine dressé ; les filaments étaient plus réduits qu'à l'ordinaire ; ils étaient presque stériles et on n'y rencontrait que quelques chlamydospores lisses et échinulées de diamètre très variable, mais assez rares.

A une pression de 150 millimètres, la croissance se faisait sensiblement de la même façon ; les fructifications étaient uniquement des chlamydospores, d'ailleurs en petit nombre.

A 250 millimètres j'ai pu obtenir des sporanges, mais ils ne se formaient bien et en grande abondance que lorsque la pression était voisine de la pression atmosphérique ou s'élevait au-dessus.

A la pression ordinaire le développement est normal et présente au bout de cinq à six jours un mycélium abondant dans lequel on trouve de nombreuses chlamydospores échinulées, des sporanges et des zygospores.

J'ai observé que plus la pression augmentait, plus la croissance du mycélium se faisait mal. Les fructifications se produisaient cependant ; elles étaient représentées par des chlamydospores et des sporanges. Il y avait une très grande différence

Digitized by Google

dans la durée de la germination. Les filaments se montraient comme un fin duvet autour du point ensemencé, et apparaissaient au même moment dans le ballon témoin et dans les ballons où la pression avait été portée respectivement à $1^{atm},5$ à 2^{atm} et à $2^{atm},5$. Mais on remarquait de suite une différence dans la vitesse d'accroissement du mycélium.

J'ai noté les différences suivantes.

a. Culture témoin. Trois jours après l'ensemencement, la plage mycélienne présentait une surface de $2^{cm},5$ de diamètre ; le jour suivant elle était de 3 centimètres ; le lendemain à la même heure, elle était de 4 centimètres, et à partir de ce moment, les filaments, ayant atteint les bords du ballon, se redressaient abondamment vers le haut et commençaient à fructifier partout.

b. Culture à 1,5 atmosphère.

La durée de germination a été la même, mais au bout de trois jours, la plage mycélienne s'étendait seulement sur $1^{cm},5$ de diamètre ; vingt-quatre heures après elle était de $1^{cm},9$; le lendemain de $2^{cm},5$, puis de $3^{cm},2$ et enfin, un peu après, de 4 centimètres et les filaments commençaient à se dresser, mais seulement sur les parois de verre ; le mycélium restait peu abondant au centre du substratum et il en était ainsi les jours suivants ; les fructifications étaient des stylospores et des sporanges. Les filaments mycéliens ne se développaient plus et prenaient l'aspect de vieux filaments, riches en gouttelettes huileuses, présentant par places quelques cloisons.

c. A 2 atmosphères, la culture s'est comportée à peu près de même, sauf au début où la croissance a été plus lente.

d. A 2,5 atmosphères, l'effet a été plus sensible sur la croissance du mycélium qui n'a atteint le bord du ballon que le sixième jour après l'apparition des premiers filaments ; le thalle est resté toujours très misérable, rampant à la surface du milieu nutritif, sauf sur les bords où il s'est un peu dressé sur les parois et où il a formé quelques sporanges.

Le tableau suivant (page 94) résume d'un façon plus nette les remarques précédentes.

Il semble donc d'une façon générale que la germination de *Mortierella polycephala* n'est pas empêchée par les variations extérieures de la pression, même lorsque ces variations s'étendent sur une assez grande échelle. Dans le vide de la trompe, la germination se fait tout aussi bien que sous une pression voisine de 3 atmosphères ; la durée de la germination est plus lente sous la pression de quelques millimètres obtenue avec la trompe ; en revanche, la croissance du champignon se fait très mal ; il ne s'étend ni en surface, ni en profondeur, il ne fructifie pas.

Des pressions supérieures à la pression atmosphérique gênent la croissance du mycélium, sans l'empêcher ; et si ce dernier est moins abondant qu'à la pression normale, il peut

Digitized by Google

Durée de germination et vitesse d'accroissement du mycélium à des pressions variables.

DATES	VIDE	95 MILLIM.	150 MILLIM.	1 ATMOSPH.	1 ATM. 5	2 ATMOSPH.	2 ATM. 5
26 janvier.....	*Ensemencement de toutes les cultures.*						
28 —	»	»	»	Apparit. des premiers filaments.	»	»	»
29 —	»	Apparit. des premiers filaments.	Apparit. des premiers filaments.	Plage de 1c,5	Apparit. des premiers filaments.	Apparit. des premiers filaments.	Apparit. des premiers filaments.
30 —	»	»	»	— de 3c,0	Plage de 1c,5	Plage de 1c,0	Plage de 0c,8
31 —	»	»		— de 4c,0	— de 1c,9	— de 1c,3	— de 1c,0
1er février.....	Apparit. des premiers filaments.	Plage de 4cm,5 de diamètre.	Plage de 4 cent.	Le mycélium atteint les bords du ballon, se dresse et fructifie abondamment : chlamydospores, sporanges, œufs.	— de 3c,2	— de 2c,8	— de 1c,8
2 —	»	Filaments peu abondants, à peine dressés. stylospores très peu abondantes : pas de sporanges ni d'œufs.	Mycélium peu abondant ; stylospores, quelques sporanges en petit nombre.		— de 4c,0	— de 3c,5	— de 2c,5
3 —	»					— de 4c,0	— de 3c,2
4 —	Plage de 1 cent.						— de 4c,0
5 —	Mycélium faiblement développé.				Mycélium peu abondant, très clairsemé, rampant au milieu du substratum, dressé sur les bords, stylospores et sporanges.		Mycélium très réduit sauf sur les bords de la culture ; chlamydospores aériennes et sporanges.
6 —	Stérile.						
7 —	Ne s'accroît plus.						

Digitized by Google

cependant fructifier et donner des sporanges. Ces sporanges peuvent même présenter parfois de petites branches ramifiées, ce que je n'ai observé, chez le *Mortierella polycephala*, que lorsque le champignon poussait dans de mauvaises conditions.

Puisque l'augmentation de pression qui s'exerce à la surface du milieu nutritif n'empêche pas le mycélium de se former, ni les sporanges et les chlamydospores de prendre naissance, on peut supposer que la pression interne protoplasmique est assez considérable; elle s'augmente encore probablement par ce fait que les échanges osmotiques entre le mycélium et le milieu nutritif sont plus actifs. En outre, le mycélium trouve dans l'atmosphère sous pression l'oxygène nécessaire à son existence et cela suffit pour qu'il puisse s'accroître. C'est très probablement au manque d'oxygène qu'il faut attribuer le faible développement du mycélium dans le vide.

Je n'ai pas cherché à diminuer la pression au delà des limites données par la trompe, car l'eau du substratum s'évapore d'autant plus rapidement qu'on s'approche du vide et dans ces conditions on pourrait être tenté d'attribuer à l'absence d'oxygène des résultats qui peut-être seraient dus, pour une grande part, à la faible teneur en eau du milieu nutritif.

Influence du milieu nutritif.

Dans l'étude biologique du *Mortierella polycephala* on peut faire presque complètement abstraction de la nature de l'atmosphère dans laquelle le développement va s'effectuer. J'ai observé, en effet, que si les conditions d'humidité de l'atmosphère, de température et de pression sont satisfaisantes, le champignon croît normalement, quelle que soit la nature des gaz qui l'environnent. Ce qui importe davantage pour l'existence de *Mortierella polycephala* et pour sa multiplication sexuée ou asexuée, c'est la nourriture qui lui est offerte et qu'il va trouver dans le substratum sur lequel sera fait l'ensemencement.

C'est l'avis de presque tous les physiologistes, Van Tieghem, Klebs, Brefeld, etc., et si tous ne sont pas d'accord pour lui attribuer la première place dans les facteurs de l'évolution de

Digitized by Google

l'organisme, aucun ne met en doute que le milieu nutritif n'ait un rôle important au point de vue de la croissance et de la formation de l'appareil reproducteur. C'est pourquoi j'ai étudié l'influence que peut exercer le milieu nutritif sur la germination, la croissance et la formation des organes reproducteurs du *Mortierella polycephala*.

J'exposerai d'abord l'influence des milieux naturels, liquides ou solides ; puis, dans le même ordre, l'influence des milieux artificiels, et enfin l'influence de la nature spéciale du milieu nutritif.

Il faut d'abord remarquer d'une façon générale que le *Mortierella polycephala* ne se développe bien et ne produit de fructifications abondantes que lorsqu'il est semé sur un substratum humide et que dans l'atmosphère qui l'entoure, il trouve des conditions d'humidité favorable. Ces deux conditions doivent être réunies, une seule ne suffit pas. Si le milieu est desséché et placé dans une atmosphère humide, le champignon pousse mal ou pas du tout. Si le milieu est humide et l'atmosphère desséchée, la croissance n'a pas lieu.

Milieux nutritifs naturels.

1° *Milieux liquides.* — Dans les milieux naturels liquides, le développement de *Mortierella polycephala* se fait mal en général ; j'ai pu le cultiver sur de la décoction de fumier, sur du jus de carottes, en cellule de Van Tieghem, mais je n'ai jamais obtenu, en cellule, que des chlamydospores échinulées. Le champignon n'a poussé ni dans l'eau pure, ni dans le jus d'orange, ni dans le liquide Raulin ; dans le jus de pruneaux, j'ai obtenu un maigre développement du mycélium avec peu de chlamydospores.

2° *Milieux solides.* — J'ai expérimenté les milieux suivants : crottin de cheval, pomme de terre, carotte, pain sec, pain humide.

Sur le fumier de cheval, le développement est normal, mais je n'y ai pas observé de zygospores. Il en est de même sur des carottes, que la culture soit faite en boîte de Pétri ou dans des tubes de Roux. Sur les pommes de terre, le développement est

Digitized by Google

plus lent à se faire que sur les carottes, et les filaments produits restent plus longtemps stériles, mais au bout d'une dizaine de jours les fructifications sont très abondantes; on y voit surtout des sporanges et des chlamydospores échinulées ; le mycélium finit par devenir aussi abondant que sur la carotte.

Sur le pain sec (du pain ordinaire soumis à la stérilisation à 120° pendant un quart d'heure à l'autoclave), le mycélium est très peu développé ; il est répandu comme une légère toile d'araignée à la surface du pain ; les fructifications sont réduites à des chlamydospores échinulées, en très petit nombre.

Sur du pain stérilisé, humecté d'eau de façon à former presque une bouillie compacte, le développement est régulier. Le mycélium se développe parfaitement, aussi bien que sur les carottes ; les chlamydospores sont nombreuses ; on voit quelques sporanges assez rares. L'action de l'eau est manifeste et le pain humide est un milieu qui convient parfaitement à la formation des chlamydospores.

Ces différentes substances, l'eau mise à part, constituent des milieux favorables à des degrés très divers, mais qui ne peuvent guère nous renseigner sur les effets spéciaux qu'ils produisent. Leur composition chimique est très complexe et discutable. Nous sommes peu renseignés, malgré les progrès de la chimie moderne, sur la nature exacte du fumier et autres milieux semblables et il m'a semblé préférable d'étudier l'action des milieux artificiels.

MILIEUX NUTRITIFS ARTIFICIELS.

J'ai déjà dit que les milieux liquides, tels que le liquide Raulin, le liquide Van Tieghem ne m'avaient donné aucun résultat avec le *Mortierella polycephala*.

J'ai fabriqué de toutes pièces des milieux solides dans lesquels dominait soit la gélatine, soit la gélose.

Gélatine et eau.

Un pareil milieu est peu propice à la croissance du *Mortierella polycephala*. Le mycélium apparaît trois jours après l'ensemencement. Il est extrêmement réduit, peu apparent, et se développe lentement sans se dresser. Le développement se fait

Digitized by Google

tout aussi bien vers l'extérieur que vers l'intérieur de la gélatine qui se liquéfie, quoique la température soit seulement de 18°. Au bout de quelques jours le mycélium forme un feutrage de 1 ou 2 millimètres d'épaisseur à la surface de la gélatine liquéfiée et on trouve comme fructifications des chlamydospores échinulées et lisses. Les sporanges s'y rencontrent, mais en petit nombre.

Gélose et eau.

C'est un milieu très peu favorable à la croissance du mycélium. Celui-ci apparaît trois jours après l'ensemencement, et, à

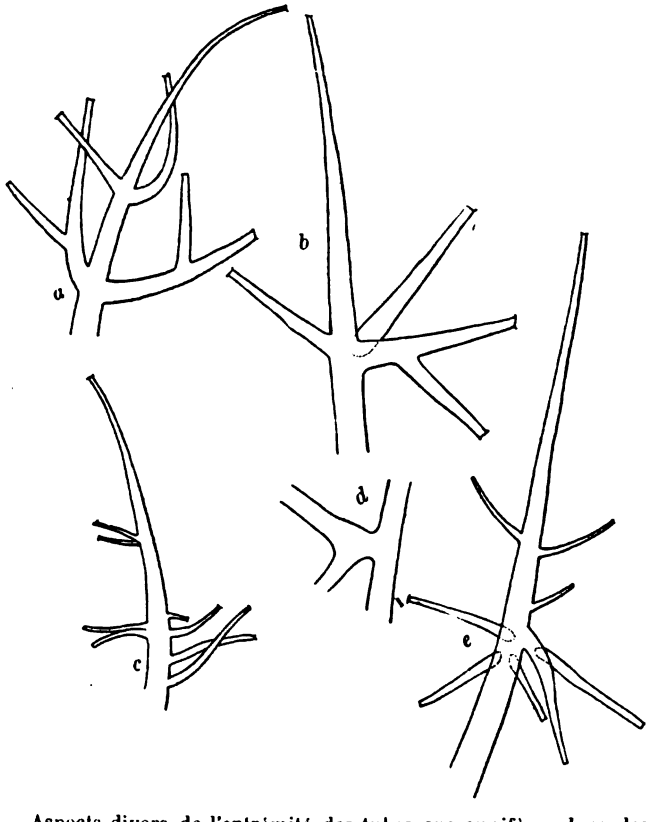


Fig. 45. — Aspects divers de l'extrémité des tubes sporangifères dans des cultures sur gélose et eau (*c*, *e*) et dans des milieux gélosés concentrés (*a*, *b*). Les branches secondaires sont nombreuses; elles sont ramifiées; *d*, une ramification (gr. = 650).

partir de ce moment, s'étend à la surface du substratum sans se dresser. Il est très réduit et s'étend en formant un réseau à

Digitized by Google

mailles très larges qu'on peut observer à l'œil nu ou à la loupe. Quinze jours après, le mycélium n'est pas plus développé, et par places on voit se dresser de petites branches terminées par de petits renflements blanchâtres. Au microcospe, on reconnaît des tubes sporangifères très renflés et qui, dans la partie terminale, montrent de nombreuses ramifications terminées chacune par un sporange. Parfois, ils présentent des ramifications de second ordre qui pourraient faire prendre le champignon pour *Mortierella Van Tieghemi*, de Bachmann. Il est évident que la gélose doit être un milieu très peu nutritif et dans ce cas la formation des sporanges et de leurs ramifications pourrait trouver sa raison d'être, comme le dit M. Van Tieghem, dans le défaut de nourriture. Quelle qu'en soit la cause, les sporanges sont ici très abondants ; les chlamydospores le sont beaucoup moins, et ce sont surtout des chlamydospores lisses.

Gélose, peptone et eau.

La peptone peut être considérée comme un bon aliment pour le *Mortierella polycephala*. La germination se fait normalement, les premiers filaments commencent à apparaître au bout de deux jours, comme un léger duvet dans les tubes de culture ; mais les fructifications qui apparaissent dès le soir même et les jours suivants sont uniquement représentées par des chlamydospores échinulées et lisses ; les sporanges manquent; le mycélium est peu développé par rapport à celui qui apparaît dans les milieux à gélose sucrée.

Milieux gélosés sucrés.

Il est évident, d'après ce qui précède, que l'absence d'éléments hydrocarbonés retentit d'une façon certaine sur le développe- du mycélium et sur la forme de l'appareil fructifère.

Dans quelle mesure la nature de l'hydrate de carbone et sa concentration peuvent-elles influencer le développement?

Dans les milieux gélosés glucosés que j'employais d'habitude dans mes recherches, j'observais une croissance très abondante du mycélium; les formes fructifères étaient, dès les premiers jours, représentées par des chlamydospores lisses et échinulées et des sporanges; au bout de quelques jours, la nourriture

Digitized by Google

devenant moins abondante, on voyait apparaître des zygospores.

Je me suis tout d'abord préoccupé de rechercher l'influence de la concentration sur la croissance du mycélium. J'ai opéré de deux façons différentes :

1° En diminuant simplement la teneur en eau du substratum ;

2° En augmentant la proportion de substance nutritive représentée ici par le glucose.

Dans les deux cas on obtient des résultats très différents.

Je préparais par exemple des tubes de gélose peptonisée sucrée de la manière suivante. L'une des séries de tubes de culture contenait :

Gélose	8 grammes.
Peptone	3gr,5
Glucose	18gr,5
Eau	500 grammes.

L'autre contenait identiquement les mêmes substances, et ne différait que par la teneur en eau qui était, suivant les cas, 400 grammes, 300 grammes, 200 grammes, 100 grammes.

Dans les premiers tubes, la germination avait lieu au bout d'une trentaine d'heures et, à ce point de vue, on ne constatait pas de grandes différences dans les divers cas d'expérience. Au bout de quatre à cinq jours, les filaments s'étendaient à la surface du substratum et commençaient à se dresser et à fructifier. Dans les tubes qui contenaient 500 grammes, 400 grammes, 300 grammes d'eau pour la même quantité de nourriture, les formes reproductrices étaient figurées par des chlamydospores et des sporanges ; mais dans les tubes qui contenaient 100 grammes d'eau, on observait au bout du même temps que les appareils fructifères étaient représentés presque uniquement par des tubes sporangifères très nombreux, présentant de nombreuses ramifications terminales ayant à leur extrémité des sporanges arrondis ; on en voyait qui étaient déjà mûrs, dont la déhiscence s'était déjà produite ; on en voyait d'autres en formation.

Il me paraît évident qu'il y a une relation de cause à effet dans la faible teneur en eau du milieu nutritif et la formation du sporange. Il me semble que la diminution de l'eau dans le substratum augmente la valeur de la pression osmotique à

Digitized by Google

l'intérieur des filaments; les tubes sporangifères prennent naissance beaucoup plus rapidement que d'habitude ; ils se ramifient plus que dans les conditions ordinaires.

On ne s'expliquerait pas autrement que pour une nourriture identique, il y eût une pareille différence dans la forme de l'appareil reproducteur.

Le même résultat s'observe quand on augmente la proportion en sucre du substratum, en laissant identique la proportion d'eau et des autres substances.

J'ai préparé des milieux de culture contenant :

Gélose.....	8 grammes.
Peptone.....	3gr,5
Eau.....	500 grammes.

et des proportions variables de glucose : 20 p. 100, 30 p. 100, 40 p. 100, 50 p. 100, 60 p. 100, 70 p. 100 et 80 p. 100, par rapport aux autres éléments.

Dans les cultures qui contenaient de 20 à 50 p. 100 de glucose, le développement a pu se faire à peu près normalement; le mycélium était cependant moins abondant lorsque la proportion de glucose augmentait; les fructifications étaient des stylospores et des sporanges ; il n'y avait pas d'œufs. Dans la culture à 60 p. 100 de glucose, la prédominance des sporanges était très marquée dès le début et ces tubes sporangifères présentaient jusqu'à sept à huit petites ramifications latérales disposées irrégulièrement dans le voisinage de l'extrémité (fig. 45).

On constatait des différences dans le temps d'apparition des premiers filaments ; les cultures à 20 p. 100 de glucose germaient au bout de vingt-quatre heures; celles à 30 p. 100 au bout de trente-six heures ; celles de 50 et 60 p. 100, au bout de trois jours.

Dans les cultures contenant 70 et 80 p. 100 de glucose, je n'ai obtenu aucune germination.

Action des différents hydrates de carbone.

Parmi les hydrates de carbone étudiés, je citerai en première ligne les sucres : glucose, lévulose, galactose, lactose, maltose et saccharose (1).

(1) Le milieu utilisé dans ces expériences renfermait 8 grammes de gélose, 3gr,5 de peptone, 500 grammes d'eau et 18gr,5 de l'un des hydrates de carbone cités.

Digitized by Google

Le *glucose* est un excellent milieu nutritif pour toutes les Mucorinées; c'est celui que j'ai employé dans toutes mes études et qui m'a donné les meilleurs résultats. Le mycélium apparaît, sur un substratum formé de gélose, peptone, eau et glucose, au bout de vingt-quatre ou trente heures ; très rapidement les tubes de cultures ou les ballons sont envahis par un mycélium abondant qui, examiné au microscope, montre surtout des sporanges et des œufs. Il y a peu de chlamydospores échinulées; elles ont un diamètre ordinaire (18 à 20 μ). Les tubes sporangifères sont bien développés; ils peuvent atteindre souvent une hauteur de 400 à 450 μ; dans leur plus grande largeur, ils ont de 12 à 20 μ. Les œufs, arrondis, légèrement discoïdes, ont un diamètre qui peut varier de 250 à 800 μ.

Avec le *lévulose* on obtient également des cultures très abondantes; le mycélium est d'abord assez rare et s'étend à la surface du milieu nutritif en donnant des chlamydospores échinulées dont le diamètre est de 18 à 22 μ; un peu plus tard les filaments se dressent abondamment et il apparaît des sporanges et des œufs; les tubes sporangifères ont de 350 à 370 μ de hauteur, et de 15 à 20 μ de largeur ; les spores ont de 8 à 12 μ de diamètre.

Avec le *galactose* on obtient dans les tubes ou les ballons de culture un mycélium très abondant comme dans le cas du glucose; les fructifications sont aussi représentées par des chlamydospores échinulées, puis par des sporanges et des œufs; ces fructifications présentent sensiblement les mêmes dimensions que celles qu'on obtient avec le glucose.

Avec les sucres qui suivent et qu'on peut ranger dans la classe des glucosides, on obtient des résultats un peu différents.

Avec le *lactose* on a un mycélium peu abondant, constitué surtout par des filaments qui se dressent en petit nombre contre la paroi des tubes de culture ; les formes reproductrices qu'on observe au microscope sont des chlamydospores échinulées et des sporanges renfermant une vingtaine de spores ovales dont le diamètre varie de 8 à 11 μ; les tubes sporangifères sont très hauts ; ils atteignent jusqu'à 400 à 450 μ. Il n'y a pas d'œufs.

Avec le *saccharose*, les résultats sont identiques.

Avec le *maltose*, la spore donne un mycélium peu abondant

Digitized by Google

et les fructifications sont uniquement des chlamydospores échinulées dont le diamètre est de 18 à 20 μ. On ne trouve ni sporanges, ni œufs.

Avec le *raffinose* on obtient des chlamydospores et des sporanges avec spores arrondies; les tubes sporangifères ont de 350 à 400 μ, et leur plus grande largeur est de 12 à 15 μ. Il n'y a pas d'œufs.

Avec la *salicine* j'obtiens un mycélium très peu abondant; les fructifications sont représentées par des tubes sporangifères de 300 à 320 μ de hauteur, de 18 à 20 μ de largeur; les spores arrondies ont de 8 à 12 μ de diamètre; on trouve des chlamydospores de 16 à 20 μ de diamètre.

Dans les milieux gélosés où l'aliment nutritif est représenté par des matières amylacées, le résultat obtenu est différent, suivant que l'on emploie l'amidon ou la dextrine. On sait que cette dernière résulte de la transformation de l'amidon.

Dans les cultures à *amidon*, on obtient rapidement au bout de cinq à six jours un mycélium abondant, avec des filaments de grosseur normale dressés surtout contre les parois du tube; mais les seules fructifications obtenues sont des chlamydospores échinulées de 18 à 22 μ de diamètre; les sporanges et les œufs font défaut.

Dans les tubes de culture à *dextrine*, au contraire, le mycélium se présente avec le même aspect et la même abondance; mais les appareils reproducteurs présentent, en outre, des chlamydospores échinulées dont le diamètre est normal, des sporanges en assez grand nombre. Les tubes sporangifères ont une hauteur de 370 à 400 μ; leur plus grande largeur est d'environ 15 à 20 μ; les spores contenues dans le sporange globuleux sont arrondies et au nombre d'une vingtaine par sporange; elles ont un diamètre qui varie de 8 à 10 μ.

Les *alcools* peuvent constituer des aliments pour le *Mortierella polycephala*, mais il est à remarquer que le résultat des cultures est très variable suivant la constitution chimique de l'alcool employé et même suivant la structure moléculaire de ceux qui présentent la même constitution chimique.

Avec des alcools riches en carbone, le mycélium se développe assez bien; quand l'alcool en contient moins, le mycélium

Digitized by Google

est misérable et très réduit. J'ai observé les faits suivants :

Avec la *mannite*, le mycélium est assez développé, normal ; les filaments ont un diamètre ordinaire ; les chlamydospores échinulées, très nombreuses, apparaissent seules ; elles ont de 20 à 25 μ. Les sporanges et les œufs manquent.

Avec la *dulcite*, qui cependant présente la même composition chimique, j'obtiens un mycélium bien développé, assez abondant. Les fructifications qui apparaissent d'abord sont des chlamydospores échinulées, de 23 à 25 μ, puis des sporanges portés à l'extrémité de tubes sporangifères de 300 à 350 μ de hauteur, contenant de 20 à 25 spores ovales, de 9 à 12 μ de diamètre. Il n'y a pas d'œufs.

Avec la *quercite*, on obtient un mycélium peu abondant, présentant des stylospores et des sporanges. Les stylospores ont de 19-20 μ de diamètre ; les tubes sporangifères, hauts de 350 μ, renferment des spores arrondies de 7 à 10 μ de diamètre.

Des cultures faites avec de l'*érythrite* comme élément nutritif donnent un mycélium très bien développé ; mais comme fructifications, on y trouve ni sporanges, ni œufs, et les chlamydospores qu'on y rencontre en grande abondance ont des dimensions extrêmement variables, de 10 à 20 μ.

Dans un milieu *glycériné*, le mycélium bien développé donne naissance à des chlamydospores de 18 à 20 μ de diamètre ; on y trouve aussi des sporanges de 350 à 400 μ de hauteur et de 12 à 15 μ de largeur ; les spores arrondies ont un diamètre de 6 à 10 μ.

Pour étudier l'influence de l'*alcool éthylique*, je préparais d'abord le milieu gélosé peptonisé dans les mêmes proportions que précédemment ; je le stérilisais, puis, aseptiquement, le milieu étant maintenu liquide à 60°, j'y introduisais les proportions convenables d'alcool éthylique à 90°.

Dans une pareille culture, la végétation mycélienne est très misérable, les filaments peu nombreux présentent des chlamydospores et quelques œufs dont le diamètre peut aller de 250 à 600 μ.

On peut résumer les faits qui précèdent dans le tableau suivant :

Digitized by Google

	ALIMENT	MYCÉLIUM	APPAREIL reproducteur.	DIMENSIONS PRINCIPALES en μ.
Sucre fermentescible en Cs.	Glucose ..... Galactose....	Très abondant, remplissant rapidement les tubes de cultures. Filaments dressés.	Sporanges et œufs. Stylospores échinulées.	Tubes sporangifères: Hauteur..... 400-450 μ. Plus grde largeur.. 12-20 μ. Spores arrondies.... 10-12 μ. Œufs..... 250-800 μ. Stylospores..... 18-20 μ. Stylospores..... 18-22 μ.
	Lévulose	Mycélium d'abord rampant, puis filaments dressés très nombreux.	Stylospores échinulées, sporanges, œufs.	Tubes sporangifères: Hauteur..... 350-370 μ. Largeur..... 15-20 μ. Spores..... 8-12 μ. Œufs..... 250-800 μ.
Glucosides.	Salicine.....	Mycélium peu abondant.	Stylospores, sporanges, pas d'œufs.	Tubes sporangifères: Hauteur..... 300-320 μ. Largeur..... 18-20 μ. Spores arrondies..... 8-12 μ. Stylospores..... 16-20 μ.
	Raffinose	Mycélium abondant.	Sporanges, quelques stylospores, pas d'œufs.	Tubes sporangifères: Hauteur..... 350-400 μ. Largeur..... 12-15 μ. Spores arrondies.... 9-10 μ. Stylospores ..... 16-20 μ.
	Maltose.....	Mycélium peu abondant.	Stylospores, ni sporanges ni œufs.	Stylospores..... 18-20 μ.
	Saccharose ..	Mycél. peu abondant constitué par des filam. dressés surtout contre la paroi du tube.	Stylospores et sporanges, pas d'œufs.	Tubes sporangifères: Hauteur..... 400-500 μ. Largeur..... 12-18 μ. Spores ovales ..... 8-11 μ. Stylospores ..... 20-15 μ.
Matières amylacées.	Lactose	Mycélium peu abondant.	Sporanges et stylospores, pas d'œufs.	Tubes sporangifères: Hauteur..... 400-450 μ. Largeur..... 12-18 μ. Spores ov. et arrond. 8-11 μ. Stylospores..... 20-25 μ.
	Amidon	Mycélium abondant.	Stylospores, sporanges.	Tubes sporangifères: Hauteur. ..... 370-400 μ. Largeur..... 15-20 μ. Spores arrondies..... 8-10 μ. Stylospores... ..... 18-20 μ.
	Dextrine.....	Filam. dressés surtout contre les parois du tube.....	Stylospores, ni sporanges, ni œufs.	Stylospores ..... 18-22 μ.
	Mannite.....	Mycélium peu abondant.	Stylospores, ni sporanges, ni œufs.	Stylospores..... 20-25 μ.
Alcools.	Dulcite	Mycélium bien développé,	Stylospores, sporanges.	Tubes sporangifères: Hauteur..... 300-350 μ. Largeur..... ... 15-18 μ. Spores ovales..... 9-12 μ. Stylospores..... 23-25 μ.
	Quercite.....	Mycélium peu abondant.	Sporanges et stylospores.	Tubes sporangifères: Hauteur..... 320-370 μ. Largeur..... 18-20 μ. Spores arrondies.. .. 7-10 μ. Stylospores .... 19-20 μ.
	Érythrite	Mycélium assez abondant.	Stylospores, ni sporanges ni œufs.	Stylospores..... 10-20 μ.
	Glycérine....	Mycélium assez abondant, dressé.	Sporanges, stylospores.	Tubes sporangifères: Hauteur..... 350-400 μ. Largeur..... 12-15 μ. Spores arrondies.... 6-10 μ. Stylospores. ..... 18 20 μ.
	Alcool éthyl.	Mycél. très réduit, filam. peu nombr.	Stylospores et quelques œufs.	Stylospores..... 18-20 μ. Œufs..... 250-600 μ.

Digitized by Google

Dans toutes ces expériences relatives à l'influence du milieu, les tubes de culture ont été stérilisés à l'autoclave en milieu neutre. De la sorte, le sucre n'a pas été modifié par la chaleur. Les cultures ont été suivies depuis l'ensemencement jusqu'au moment de l'apparition des fructifications.

L'observation de l'apparition des premiers filaments a permis de conclure que la germination se fait partout dans le même temps, sauf dans les cultures à alcool où elle est plus lente.

Dans ces cultures faites en tubes de Roux ou dans des ballons Pasteur, le mycélium apparaît généralement au bout de trente-six à quarante-huit heures.

L'examen du tableau précédent, qui résume les faits observés, permet donc de conclure ce qui suit :

1° Le mycélium du *Mortierella polycephala* se développe abondamment en présence du glucose, du galactose et du lévulose. Il se développe moins bien en présence des glucosides (salicine, lactose, saccharose, raffinose), et des alcools (mannite, érythrite, glycérine).

2° Le glucose, le lévulose et le galactose favorisent l'apparition des sporanges et la formation des œufs.

3° Il en est de même de l'alcool, cependant très nuisible en général au développement du champignon, puisqu'une dose de 5 p. 100, dans un milieu gélosé, empêche la végétation de se produire.

J'avais pensé à rapprocher ce résultat de celui que donnent le galactose, le glucose et le lévulose. Dans ces milieux, le *Mortierella polycephala* donne des sporanges et des œufs; or ce sont des sucres directement fermentescibles. Et tout de suite une question se posait : la formation des œufs ne serait-elle pas précédée de la transformation de ces sucres en alcool et en gaz carbonique? J'ai essayé de vérifier cette hypothèse en cultivant le *Mortierella polycephala* sur divers milieux (amidon, glucose, lévulose) : 1° dans le vide ; 2° dans le gaz carbonique.

Les résultats obtenus démontrent qu'il n'y a pas de fermentation de ces différents hydrates de carbone sous l'influence du *Mortierella polycephala*; mes différentes analyses du milieu dans lequel s'est développé le champignon, ne donnent pas le droit de penser qu'il s'est formé de l'alcool pendant le dévelop-

Digitized by Google

pement. En tout cas, les différentes réactions chimiques qui permettent de déceler la présence de l'alcool, même en faible quantité, ne m'ont donné aucun résultat. La réaction du bichromate de potassium et de l'acide sulfurique, qui est assez sensible, réussit bien, mais comme elle a lieu en présence d'autres corps, tels que des aldéhydes, on ne peut rien en conclure. Tout au plus, peut-on affirmer que le *Mortierella polycephala* présente une singulière résistance à l'asphyxie. Il ne se développe pas, ou se développe très mal dans le vide où le mycélium apparaît comme un fin duvet à la surface du milieu nutritif et peut rester en cet état pendant plusieurs semaines sans produire de sporanges ou d'œufs. Plus tard, lorsqu'il est replacé dans les conditions normales, il peut continuer son développement avec une activité nouvelle, souvent très supérieure à celle qu'il présente habituellement et peut alors, selon le milieu, donner des sporanges ou des œufs.

Digitized by Google

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Dans le travail qui précède, j'ai étudié les Mortiérellées à un double point de vue, et l'on peut résumer comme il suit les conclusions auxquelles je suis arrivé :

A. Au point de vue de la systématique, le nombre des espèces distinctes de *Mortierella* peut être très réduit.

J'ai décrit une variété nouvelle, que j'ai dénommée *Mortierella cannabis* et deux espèces nouvelles, *Mortierella canina* et *Mortierella raphani*.

B. Au point de vue de la biologie du *Mortierella polycephala* :

1° J'ai observé l'existence des zygospores et j'ai pu, en examinant de nombreuses cultures, en suivre la formation ;

2° J'ai déterminé par l'ensemencement d'une seule spore le caractère « homothallique » de l'espèce ;

3° J'ai constaté que la germination du *Mortierella polycephala* se fait plus rapidement et l'accroissement plus vite lorsque le volume d'air offert au champignon est plus grand. L'influence du volume des récipients est donc à considérer à ce point de vue;

4° La température optima de germination est 27° pour le *Mortierella polycephala*, mais ce n'est pas la température optima pour la formation des sporanges et des œufs. Cette température se place entre 15 et 20° C. Au-dessous de 0° et au-dessus de 35°, la germination ne se fait pas, mais les spores et les stylospores ne sont pas tuées; à 45° les spores et les stylospores sont tuées;

5° Le *Mortierella polycephala* est sensible à l'action de la lumière. Il germe et s'accroît plus lentement à l'obscurité, mais les fructifications ne sont pas modifiées. Le développement à la lumière continue se fait plus vite. Il est d'autant plus rapide que l'intensité lumineuse est plus grande, mais alors l'appareil reproducteur est réduit uniquement à des stylospores ;

6° Parmi les radiations lumineuses de différentes longueurs d'onde, les radiations violettes et ultra-violettes semblent indispensables à la germination du champignon étudié, mais les autres radiations le laissent à peu près insensible. Le champignon *est plus sensible à l'intensité qu'à la longueur d'onde des radiations lumineuses ;*

Digitized by Google

7° Les rayons X ont sur la germination du *Mortierella polycephala* une action nettement retardatrice ; les cultures soumises aux rayons de Rœntgen se développent d'autant plus mal que l'action est plus prolongée ;

8° Les corps radio-actifs arrêtent la croissance du mycélium du *Mortierella polycephala* et empêchent la germination de la spore ; cette action est purement paralysante ;

9° Les rayons du radium provoquent l'apparition de kystes à l'intérieur des filaments ;

10° Les spores et le mycélium soumis à l'action du radium passent à l'état de vie latente ;

11° L'action de l' « émanation » du radium est plus nocive que celle du chlorure de radium. Elle arrête immédiatement la croissance du mycélium, provoque son enkystement et, si elle est suffisamment concentrée, peut empêcher la germination des spores ou des chlamydospores ;

12° La germination du *Mortierella polycephala* ne se fait pas dans une atmosphère desséchée, même lorsque le milieu nutritif est humide, s'il est protégé contre la dessiccation par un moyen quelconque. L'humidité de l'atmosphère a plus d'importance pour la croissance du champignon que l'humidité du substratum, quoique celle-ci ne soit pas à négliger ;

13° La croissance du champignon se fait très mal sous une pression de quelques millimètres et le *Mortierella* reste stérile. A 150 millimètres il se forme des sporanges et des chlamydospores. Les pressions supérieures à la pression atmosphérique gênent la croissance du mycélium sans l'empêcher. Les fructifications se font normalement ;

14° *L'influence du milieu nutritif est très importante* et je serais assez porté à la mettre en première ligne, avec la concentration et la température, pour l'explication de certains faits de la biologie du *Mortierella polycephala* ;

15° Dans un milieu nutritif liquide, le champignon pousse mal ; il se développe mieux sur un substratum solide ;

16° Sur les milieux solides dépourvus d'hydrates de carbone, le mycélium se développe plus ou moins suivant le milieu ; les fructifications sont représentées surtout par des sporanges ; il y a peu de stylospores. En revanche, les tubes sporangifères sont

Digitized by Google

richement ramifiés. Une nourriture appauvrie favorise la formation des sporanges, et comme j'ai toujours rencontré les zygospores en même temps que les sporanges, je considère que la formation des œufs est favorisée par une nourriture peu abondante ;

17° Parmi toutes les substances nutritives dont l'action se fait bien sentir dans le développement du *Mortierella polycephala*, il faut citer les *hydrates de carbone* ;

18° A la même dose d'aliment hydrocarboné, le développement des sporanges est favorisé par une faible teneur en eau de l'élément nutritif ;

19° La richesse en sucre du milieu nutritif favorise la formation des sporanges et des ramifications des tubes sporangifères. Au delà d'une concentration à 60 p. 100 de sucre, la germination n'a plus lieu ;

20° Parmi les différents hydrates de carbone, les sucres directement fermentescibles (glucose, galactose, lévulose) favorisent la formation des sporanges et des zygospores ;

21° Les autres hydrates (maltose, lactose, saccharose, raffinose) peuvent donner des sporanges et des chlamydospores et la forme des spores peut être différente suivant le cas : tantôt les spores sont arrondies, tantôt elles sont ovales ;

22° L'amidon, la dextrine et les alcools divers donnent des résultats variables ; avec l'alcool ordinaire, on peut obtenir des zygospores, mais le mycélium est très peu développé ;

23° Il résulte de mes expériences que le *Mortierella polycephala* se développe parfaitement dans une atmosphère complètement privée d'oxygène, pourvu que les conditions de température, de concentration, d'humidité et surtout de nourriture soient favorables. Le champignon fabrique probablement lui-même avec les éléments qu'il trouve dans le milieu, l'oxygène dont il peut avoir besoin. Cependant il ne produit pas la fermentation du glucose.

Digitized by Google

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

I. — Mucorinées en général.

1. J.-B. Carnoy, Recherches anatomiques et physiologiques sur les Champignons. *Bull. de la Soc. Roy. de Belg.*, t. IX, n° 2, 1870.
2. J. Raulin, Études chimiques sur la végétation. Thèse Faculté des Sciences, Paris, 1870.
3. J. Klein, Zur Kenntniss des *Pilobolus. Jarhb. f. wissensch. Botanik.*, VIII, Heft 3, 1882.
4. De Bary et Woronine, Zur Kenntniss der Mucorineen. *Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze*, 2e série, 1866.
5. Van Tieghem et Le Monnier, Recherches sur les Mucorinées. *Annales des Sc. nat. Bot.*, 5e série, t. XVII, 1873.
6. Ph. Van Tieghem, Nouvelles recherches sur les Mucorinées. *Annales des Sc. nat. Bot.*, 6e série, t. I, 1875.
7. Ph. Van Tieghem, Troisième mémoire sur les Mucorinées. *Annales des Sc. nat.*, 6e série, 1876.
8. Brefeld, Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. Leipzig, 1872 III et 1881 IV.
9. Brefeld, *Botanische Zeitung*, 15 sept. 1876.
10. G. Bainier, Observations sur les Mucorinées. *Ann. des Sc. nat. Bot.*, 6e série, XV, 1883.
11. — Sur les zygospores des Mucorinées. *Ibid.*
12. — Nouvelles observations sur les zygospores des Mucorinées. *Ann. des Sc. nat.*, t. XIX, 1884.
13. P. Vuillemin, Études biologiques sur les Champignons. *Bull. Soc. des Sc. de Nancy*, 2e série, t. VIII, fasc. XX, 1886.
14. Alf. de Wèwre, Le noyau des Mucorinées. *Bull. Soc. roy. bot. de Belg.*, t. XXX, 1891.
15. P. A. Dangeard, *Le Botaniste*, 1890-1895.
16. — et M. Léger, Recherches sur la structure des Mucorinées. *C. R. Acad. des Sc.*, 19 févr. 1894.
17. — et M. Léger, La reproduction sexuelle des Mucorinées. *C. R. Acad. des Sc.*, 5 mars 1904.
18. M. Léger, Recherches sur la structure des Mucorinées. Thèse de la Faculté des Sciences, Paris, 1895.
19. P.-A. Dangeard, La théorie de la sexualité. *Le Botaniste*, 6e série, Poitiers.
20. — L'influence du mode de nutrition dans l'évolution de la plante. *Le Botaniste*, 6e série, mars 1898.
21. L. Matruchot, Sur une propriété particulière du protoplasma chez une Mucorinée, et sur une propriété générale des pigments bactériens et fongiques. *Miscellanées biologiques, dédiées au professeur Giard*, Paris, 1899.
22. — Une Mucorinée purement conidienne, *Cunninghamella africana. Annales mycologicæ*, 1903.
23. Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Iéna, 1896.
24. — Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze, *Sporodinia grandis. Jahrb. f. wiss. Botanik*, XXXII, Heft 1, 1898.

Digitized by Google

25. Alfr. Lendner, Des influences combinées de la lumière et du substratum sur le développement des Champignons. *Ann. des Sc. nat.*, 8e série, t. III, 1897.
26. De Bary et Woronine, Zur Kenntnis der Mucorineen (Beit. z. Morphologie und Physiologie der Pilze, II, 1866).
27. Fr. Siebenmann, Die Fadenpilze *Aspergillus flavus, niger und fumigatus, Eurotium repens und ihre Beziehungen zur otomicosis aspergillina*, Wiesbaden, 1883.
27 *bis*. Elfving, Studien über die Einwirkung des Lichtes auf die Pilze, Helsingfors, 1890.
28. H. Bachmann, Einfluss der äusseren Bedingungen auf die Sporenbildung von *Thamnidium elegans* Link. Lucerne, 1895.
29. Dr G. Bohn, Influence des rayons du radium sur les œufs vierges et fécondés et sur les premiers stades du développement. *C. R. Acad. des Sc.*, 1903.
30. Fr. Blakeslee, Sexual reproduction. *Proc. Amer. Ac. Arts and Sc.*, vol. XL, n° 4, 1904.
31. — Zygospores germination. *Annales mycologicæ*, vol. IV, 1, 1906.
32. — Différenciation of sex in thallus gametophyte and sporophyte. *The Botanical Gaz.*, 1906.
33. — Zygospores and sexual strains in the common tread mould, *Rhizopus nigricans. Science*, XXIV, 1906.

II. — Mortiérellées.

34. Coemans, Quelques Hyphomycètes nouveaux. *Bull. Soc. roy. Acad. de Belg.*, 2e série, XV, 1863.
35. Dr C. O. Harz, *Bull. Soc. impér. nat. Moscou*, XLIV, 1871.
36. Van Tieghem et Le Monnier, Recherches sur les Mucorinées. *Ann. des Sc. nat.*, 5e série, XVII, 1873.
37. Van Tieghem, Nouvelles recherches sur les Mucorinées. *Ibid.*, 6e série, I, 1875.
38. Van Tieghem, Troisième mémoire sur les Mucorinées. *Ibid.*, IV, 1876.
39. Sorokine, Ueber die Wirkung des Lichtes auf der Pilze. *Arbeit. d. naturf. Ges. Kasan*, 1874.
40. Brefeld, *Mortierella Rostafinskii. Sitz. Ges. naturf. Fr.* Berlin, 1876.
41. J. Therry et Thierry, Nouvelles espèces de Mucorinées du genre *Mortierella. Revue mycolog.*, 1882.
42. W. B. Grove B. A. New or Noteworthy fungi, *Journ. of Botany*, 1885.
43. Costantin, Sur un nouveau Mortierella. *Bull. Soc. mycol. de France*, 1888.
44. A. L. Smith, New or rare British fungi. *Journ. of Botany*, XXXVI, 1897.
45. H. Bachmann, Beiträge zur Physiologie der Pilze. *Jahrb. für wissensch. Botanik*, 1900.
46. Matruchot, Sur une structure particulière du protoplasma chez une Mucorinée. *Miscellanées biolog.*, 1900.
47. Oudemans et Koning, Phycomycètes nouveaux. *Arch. néerlandaises des Sc. ex. et nat.*, 2e série, VII, 1902.
48. Elie Marchal, Champignons coprophiles de Belgique. *C. R. Soc. roy. Bot. Belgique*, t. XXIX.
49. J. Dauphin, Influence des rayons du radium sur le développement et la croissance des champignons inférieurs (*C. R. Ac. des Sc.*, 1904).
50. — Sur l'appareil reproducteur des Mucorinées (*C. R. Ac. des Sc.*, 1904).
51. — Nouvelles recherches sur l'appareil reproducteur des Mucorinées (*C. R. Ac. des Sc.*, 1905).

Digitized by Google

RECHERCHES ANATOMIQUES SUR L'EMBRYON ET LA GERMINATION DES CANNACÉES ET DES MUSACÉES

Par M. C.-L. GATIN

HISTORIQUE

Il semble bien que, jusqu'ici, on se soit peu occupé d'étudier l'embryon et la germination des Scitaminées et c'est surtout dans des travaux d'ordre général qu'il faut rechercher des documents se rapportant à ce grand groupe de végétaux.

Gaertner (1), en 1788, a donné une figure du fruit, de la graine et de l'embryon du *Musa sapientium* (2).

Il décrit d'autre part (3) cet embryon de la façon suivante : « Embryo parvus, in medio albuminis locatus, luticeus, fungiformis ; pileolo orbiculato, planiusculo, centrali ; pedunculo subconico, crasso, brevi, versus umbilici foramen directo. »

Il donne également une figure du fruit, de la graine et de l'embryon du *Canna indica* (4) et fait, ainsi qu'il suit, la description de cet embryon (5) : « Embryo oblongus, cavitati albuminis respondens, lacteo albicans. *Cotyledon* sublanceolata, crassa, carnosa, subinflexa. *Radic.* teretiuscula, basi incurva, centripeta. »

Avec le début du XIXe siècle, nous voyons se produire, au sujet de la signification morphologique des diverses parties de

(1) Gaertner, *De fructibus et seminibus plantarum*. Stuttgart, 1788.
(2) *Loc. cit.*, pl. XI.
(3) *Loc. cit.*, t. I, p. 29.
(4) *Loc. cit.*, pl. XII.
(5) *Loc. cit.*, t. I, p. 37.

Digitized by Google

l'embryon, de retentissantes discussions. Pour soutenir leurs opinions, les auteurs publient un grand nombre de figures dont quelques-unes se rapportent aux Cannacées et aux Musacées.

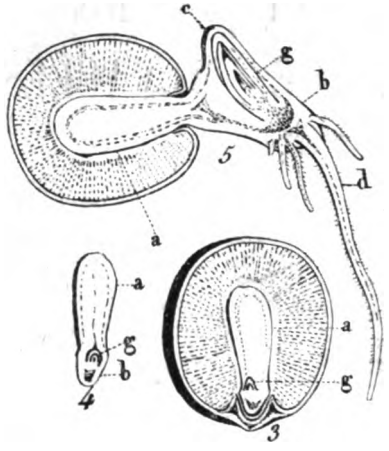


Fig. 1. — *Canna indica* L. (figure de L. Cl. Richard). — 3, coupe longitudinale de la graine ; 4, coupe longitudinale de l'embryon ; 5, coupe longitudinale d'une graine en germination ; *a*, cotylédon ; *g*, gemmule ; *b*, radicule ; *c*, colcoptile ; *d*, première racine.

L. Cl. Richard (1) est d'avis que, chez les plantes Monocotylédones, l'extrémité radiculaire de l'embryon, qu'il appelle radicule, ne devient pas elle-même la première racine, celle-ci se produit en son intérieur sous forme d'un point végétatif ou tubercule qui perce le tissu qui le sépare de l'extérieur au moment où il se développe.

C'est ce qui est visible sur la figure de cet auteur que nous reproduisons ci-contre (fig. 1) et qui représente la germination du *Canna indica*. De Mirbel (2) est d'un avis tout opposé. Pour lui, il n'y a pas de tubercule radiculaire endogène. Il publie à ce sujet un grand nombre de figures parmi lesquelles une représente l'embryon et la germination du *Canna indica*, une autre les embryons du *Ravenala madagascariensis* et du *Musa coccinea* (fig. 2).

Toutes ces figures ne nous renseignent que d'une façon approximative sur les limites exactes des différentes parties des embryons considérés, mais il semble cependant, au moins dans le cas du *Canna*, que les idées de Mirbel soient celles qu'il ait été le plus logique d'admettre à cette époque.

En 1832, A. de Jussieu (3) apporte sur l'histoire de la forma-

(1) L.-C. Richard, *Analyse botanique des embryons endorhizes ou monocotylédonés* (Ann. du Muséum, t. XVII, 1811, p. 223-251 et 442-487).

(2) Mirbel, *Examen de la division des végétaux en Endorhizes et Exorhizes* (Ann. du Muséum, t. XVI, 1810, p. 419-458, 6 pl.).

(3) A. de Jussieu, *Mémoires sur les embryons monocotylédonés* (Ann. des Sc. nat., 2e série, t. XI, 1839, p. 341-361, avec la pl. XVII).

Digitized by Google

tion de l'embryon chez le *Canna speciosa*, des observations nouvelles qui établissent surtout que la gemmule, d'abord à

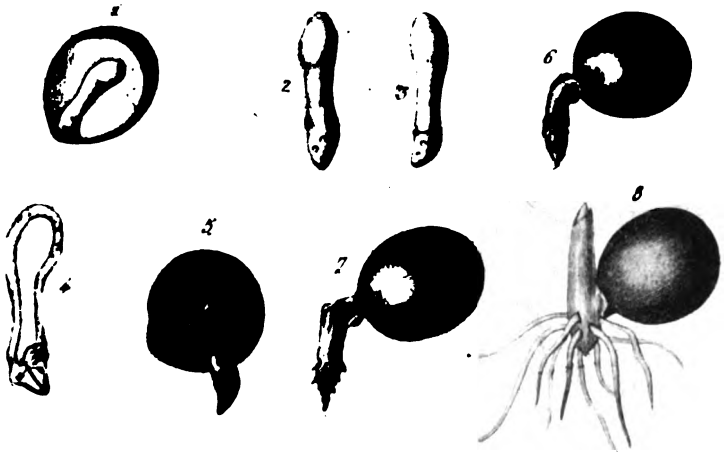


Fig. 2. — *Canna indica* (figures de Mirbel). — 1, coupe longitudinale de la graine; 2 et 3, embryon retiré du périsperme; 4, le même embryon coupé dans sa longueur; 5, graine commençant à germer; la radicule a percé les enveloppes de la graine, sa superficie se déchire; 6, graine, dont la germination est plus avancée; 7-8, germinations plus avancées.

nu, se trouve recouverte ensuite petit à petit par le tissu cotylédonaire (fig. 3).

De Jussieu admettait que ce sont les bords de la feuille cotylédonaire qui s'accroissent ainsi et qui, finalement, viennent s'accoler, séparés seulement par une fente que l'on remarque chez tous les embryons monocotylédonés.

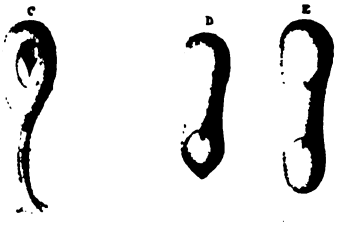


Fig. 3. — États successifs de développement de l'embryon du *Canna speciosa*; E, embryon mûr. (Figure de A. de Jussieu.)

En 1856, Hermann Schacht (1) publie son traité d'anatomie dans lequel il défend cette manière de voir que les monocotylédones n'ont pas de racine principale et donne, entre autres exemples, la germination du *Strelitzia*, qui, selon lui, germe avec une seule racine latérale.

(1) Hermann Schacht, *Lehrbuch der Anatomie und Physiologie der Gewächse*. Berlin, 1856.

Digitized by Google

L'année 1867 voit apparaître un travail de Wittmack (1), consacré à l'histoire du *Musa ensete* Gmel., et qui ne nous apporte pas beaucoup de renseignements nouveaux sur l'embryon et la germination de cette espèce. Il y est surtout question de l'allongement de la partie moyenne du cotylédon au moment de la germination et de la formation d'une gaine cotylédonaire (fig. 4).

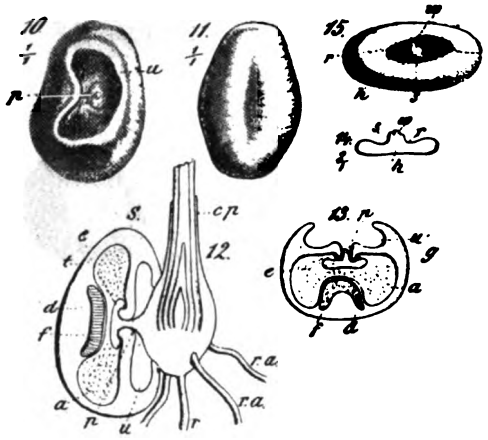


Fig. 4. — Embryon et germination du *Musa ensete* Gmel. (figure de Wittmack); *10* et *11*, graine; *12*, embryon germant, coupe longitudinale; *13*, coupe longitudinale d'une graine; *S*, graine; *a*, albumen; *c.p*, gaine cotylédonaire; *d*, partie épaissie du tégument; *e*, embryon, *p*, fossette dans le hile; *r*, racine principale; *r,a*, racines latérales; *14-15*, embryon isolé (grossi); *h*, chapeau; *s*, pétiole; *w*, mucron; *r*, fossette circulaire.

Signalons encore un travail de Overhage (2) qui a trait principalement à l'étude de l'albumen, et un mémoire de Maria Lewis (3) où il est surtout question de la nervation et de quelques faits de grosse anatomie des premières feuilles se rapportant à un certain nombre d'embryons monocotylédonés et notamment au *Canna patens*.

Nous arrivons ainsi au seul travail important qui ait été publié sur l'anatomie et la germination de la plantule des Scitaminées. Ce travail a été fait à Buitenzorg par M. Tschirch (4), et, malgré son titre général, il n'apporte surtout de faits nouveaux qu'en ce qui concerne les Musacées, les Zingibéracées et les Cannacées.

(1) Wittmack, *Musa ensete, ein Beitrag zur Kenntniss der Bananen* (In Diss. Halle, 1867).

(2) Carl Overhage, *Anatomische Untersuchung und Keimuugsgeschichte der Samen von Canna und Musa* (In Diss. Erlangen, 1887).

(3) Maria Lewis, *Bidrag till hjerthladets anatomi hos Monocotyledonerna* (Bihang till Kongl. Svenska Vetenskaps-Akademiens. Handlingar, XII, Bandet III, Afdel, n° 3, 1887).

(4) Tschirch, *Physiologische Studien über die Samen, inbesondere die Saugorgane derselben* (Ann. du Jard. bot. de Buitenzorg, t. IX, 1891, p. 143-183).

Digitized by Google

M. Tschirch y a donné, de l'embryon du *Musa ensete*, une figure qui montre cet embryon comme possédant une gemmule séparée de l'extérieur par une gaine cotylédonaire ou coléoptile et une radicule composée d'un triple point végétatif. J'ai reproduit (1) cette figure et j'ai montré quelle était la signification de ce triple point végétatif. En réalité on découvre, dans l'extrémité radiculaire de cet embryon, le cylindre central de la radicule et les racines latérales en formation. Ce sont ces divers corps qui apparaissent plus sombres sur des coupes grossières examinées à la loupe, telles que les représentent les dessins de Mirbel et de Cl. Richard et ce sont eux aussi qui forment le triple point végétatif de M. Tschirch, De chaque côté et vers la pointe du cylindre central de la radicule on peut distinguer, mais seulement sur des coupes très minces examinées au microscope, l'écorce et la coiffe de cette radicule séparées de l'extérieur par quelques assises lui constituant une gaine radiculaire, qui est exfoliée au moment de la germination.

Comme autres représentants de la famille des Musacées, M. Tschirch a étudié le *Strelitzia Reginæ* et le *Ravenala madagascariensis*. Les embryons de ces deux espèces sont figurés schématiquement et, là encore, la partie sombre

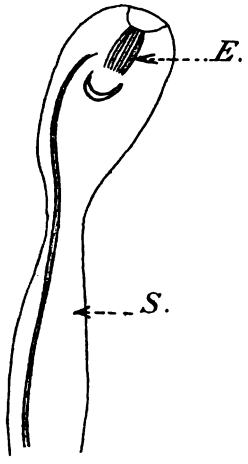


Fig. 5. — *Strelitzia Reginæ*. Coupe longitudinale de l'embryon (d'après le schéma de M. Tschirch). — E, embryon « dans le sens restreint » ; S, organe de succion.

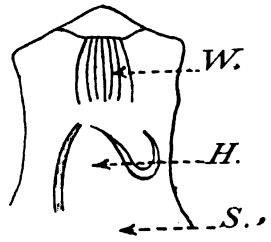


Fig. 6. — *Ravenala madagascariensis*. Coupe longitudinale de l'embryon (d'après le schéma de M. Tschirch). — W, racine ; H, partie moyenne, « cou » de l'embryon ; S, suçoir.

située vers l'extrémité radiculaire de l'embryon est consi-

(1) C.-L. Gatin, *Sur la radicule embryonnaire du Musa ensete* Gmel. (Bull. de la Soc. bot. de France, t. LIII, 1906, p. 638-640, 1 pl.).

Digitized by Google

dérée par M. Tschirch comme constituant la radicule. Nous verrons plus loin ce qu'il faut penser de cette interprétation (fig. 5 et 6).

Les mêmes remarques s'imposent encore au sujet de l'embryon du *Canna spectabilis* que M. Tschirch a étudié avec soin et dont il a donné un schéma qui est reproduit ci-contre (fig. 7).

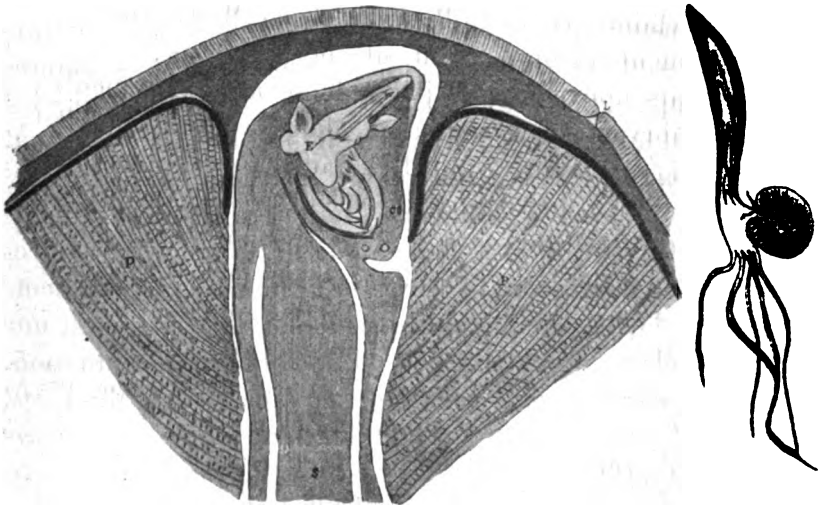


Fig. 7. — *Canna spectabilis* (figure de M. Tschirch). — 18. Partie supérieure de la graine en coupe longitudinale. P, périsperme ; S, organe de succion ; E, embryon « dans le sens restreint » ; L, cavité dans le tégument de la graine. — 19. Coupe d'une germination du même (figure de M. Tschirch) ; *c*, coléoptile ; *p*, périsperme ; *s*, suçoir.

D'une façon plus générale, M. Tschirch admet, comme l'admettait L.-C. Richard, que la radicule est incluse dans le tissu cotylédonaire, en un mot, qu'elle est endogène. De plus, pour lui, la coléoptile représente la gaine du cotylédon, la partie moyenne de l'embryon, son pétiole, et le suçoir son limbe.

Il est encore de toute nécessité, pour clore cette revue bibliographique, de signaler un travail publié en 1896 par M. Schlickum (1), qui nous renseigne surtout sur la nervation du cotylédon et des premières feuilles végétatives et sur quelques différences anatomiques existant entre ces organes ayant atteint

(1) Schlickum, *Morphologischer und Anatomischer Vergleich der Kotyledonen und ersten Laubblatter der Keimpflanzen von Monokotylen* (Bibliotheca Botanica, Heft 35, Stuttgart, 1896).

Digitized by Google

leur complet développement chez une espèce de *Canna*.

En somme, l'idée que nous pouvons, à la suite de ces divers travaux, nous faire de la structure de l'embryon et de la plantule des Cannacées et des Musacées reste assez obscure. Nous n'avons aucune idée précise sur le mode intime de croissance de chacune des diverses parties de l'embryon, pas plus que sur la structure de la radicule embryonnaire, dont l'origine endogène n'a été établie par L.-C. Richard et par M. Tschirch que sur des documents incomplets ou entachés d'erreurs.

Les résultats nouveaux que j'ai obtenus antérieurement en étudiant l'embryon et la germination, dans la famille des Palmiers (1) qui, cependant, avait déjà fait l'objet d'un nombre considérable de travaux de grande valeur, m'ont encouragé à aborder l'étude du groupe des Scitaminées, beaucoup moins connu. Ce sont les premiers résultats de ces recherches, effectuées au Laboratoire de Botanique de la Sorbonne sur les Cannacées et les Musacées, que je me propose d'exposer ici.

Je tiens à adresser mes plus vifs remerciements aux personnes qui ont bien voulu me procurer les graines qui m'ont permis d'entreprendre ce travail et en particulier à MM. Costantin, professeur au Muséum d'histoire naturelle ; Treub, directeur du département de l'Agriculture de Java ; J. C. Willis, directeur des jardins botaniques royaux de Peradenyia.

D'autre part, M. Costantin a bien voulu me faire réserver, dans les serres du Muséum, un petit espace où j'ai pu, grâce au concours dévoué du personnel du jardin, effectuer mes germinations.

OBSERVATIONS NOUVELLES

I. — CANNACÉES.

Canna.

Les diverses espèces de *Canna* que nous avons eu l'occasion d'étudier sont tellement voisines les unes des autres qu'il n'y a

(1) C.-L. Gatin, *Recherches anatomiques et chimiques sur la germination des Palmiers* (Ann. des Sc. nat. Bot., 9e série, t. III, 1906, p. 191-315, 58 fig., 11 pl.).

Digitized by Google

pas lieu de les séparer dans la description qui va être faite. Ce que nous allons dire s'applique donc aux diverses espèces qui ont été examinées, c'est-à-dire : *Canna indica* L., *Canna coccinea* A, *Canna Warszewicki* Dietr.

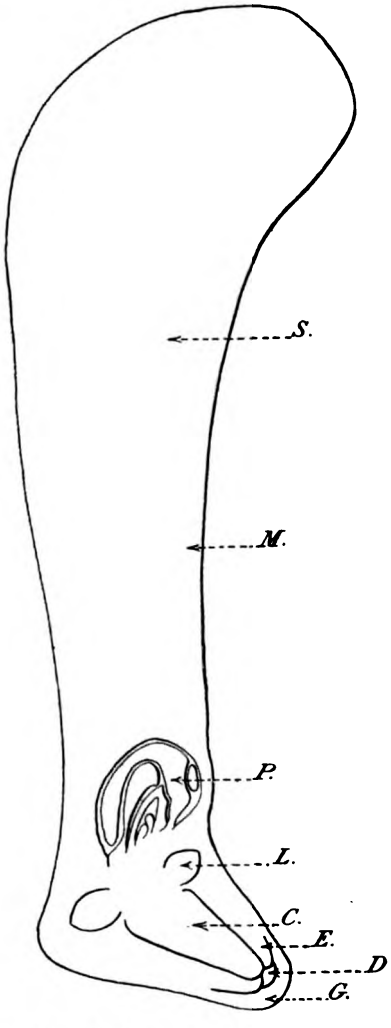


Fig. 8. — Embryon de *Canna indica* L. (Coupe longitudinale schématique.) Grossi 18 fois. — S, suçoir; M, partie moyenne de l'embryon; P, gemmule; L, racine latérale; C, cylindre central de la première racine; F, écorce de la première racine; D, coiffe de la première racine; G, gaine radiculaire.

Embryon.

L'embryon (fig. 8) est de forme allongée, il est terminé, du côté opposé au micropyle, par une partie renflée en massue, qui est le suçoir ou cotylédon. Celui-ci se continue par une partie plus étroite (M, fig. 8), que M. Tschirch appelle le cou (Hals), puis par une partie élargie, dans laquelle se trouvent la gemmule et la radicule.

La gemmule se compose de deux feuilles bien différenciées; on peut observer, vers sa base, de nombreuses racines latérales (dix à douze en général), dont on distingue déjà la coiffe, l'écorce et le cylindre central, et qui ont commencé à digérer les tissus qui les séparent de l'extérieur.

Le cylindre central de la radicule est bien visible, et c'est lui qui se trouve désigné par la lettre W (Wurzel = racine) sur le schéma que donne M. Tschirch (fig. 7) de l'embryon du

Digitized by Google

Canna spectabilis. Il est en effet très visible, à cause de l'allongement et de l'étroitesse des éléments qui le composent. De chaque côté se trouve l'écorce, figurée, sur le schéma de M. Tschirch, avec la même teinte grise que l'ensemble du cotylédon. Cette écorce est bien visible sur une coupe longitudinale ou sur une coupe transversale de la radicule embryonnaire, à cause de l'orientation très régulière de ses éléments dans le sens radial. L'écorce est limitée vers l'extérieur par une assise pilifère très nette. Si on la suit en s'éloignant du point végétatif, on voit qu'elle vient se terminer au contact de cellules qui font partie du tissu cotylédonaire, et qui constituent la troisième assise de cellules au-dessous de l'épiderme général de l'embryon.

A l'extérieur de la pointe du cylindre central de la radicule se trouve une coiffe nette, séparée de l'extérieur, de même que les parties latérales de la radicule, par plusieurs assises de cellules qui sont semblables à celles qui constituent l'ensemble de l'embryon, c'est la coléorhize ou gaine radiculaire. Le tout est recouvert par l'épiderme général de l'embryon, qui perd sa régularité à l'extrémité radiculaire, où l'on retrouve la trace du suspenseur.

Parfois, l'assise pilifère n'apparaît nettement qu'à une certaine distance à droite et à gauche du point végétatif. Cela dépend vraisemblablement de l'état de maturité de l'embryon.

La plus grande partie de cet embryon est formée, avons-nous dit, par le suçoir, dont la structure présente certaines particularités intéressantes.

Ce suçoir est formé par un tissu qui, serré à la périphérie, est lâche au centre de l'organe où il est formé de cellules sphériques, laissant entre elles de nombreux méats.

Il est parcouru par des faisceaux libéro-ligneux qui, peu nombreux au sommet, deviennent, par bifurcation, plus nombreux au point où le cotylédon est le plus large. Ils restent à une faible profondeur, dans l'intérieur du suçoir. Leur nombre diminue ensuite dans la partie moyenne : les uns disparaissent par extinction, d'autres s'anastomosent avec leurs voisins. Enfin, ils s'enfoncent dans l'intérieur des tissus pendant que leur nombre décroît de plus en plus et ils finissent par se disposer

Digitized by Google

suivant un arc de cercle, disposé dans le même sens que celui que forment les faisceaux de la première feuille de la gemmule (fig. 9 et 10). Plus bas, ces faisceaux passent un à un dans la

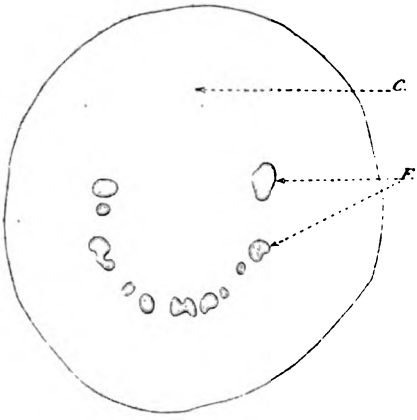


Fig. 9. — Coupe transversale d'un embryon de *Canna indica* au-dessus de la gemmule. — C, cotylédon ; F, faisceaux libéro-ligneux orientés en arc de cercle.

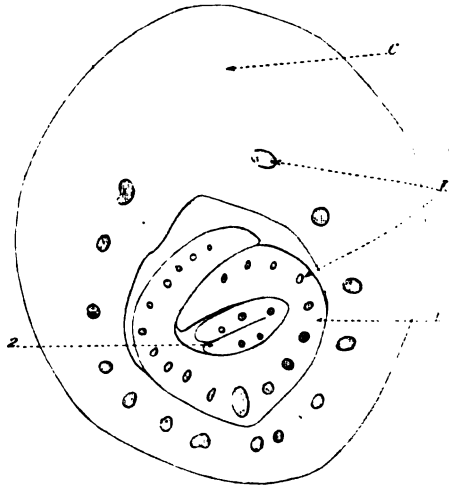


Fig. 10. — Coupe transversale d'un embryon de *Canna indica* au niveau de sa gemmule. — G, cotylédon ; F, faisceaux libéro-ligneux orientés en arc de cercle ; 1-2, feuilles successives de la gemmule.

radicule, en commençant par ceux qui se trouvaient dans la partie médiane de l'arc de cercle.

Tout l'embryon est entouré par son épiderme régulier, palissadique. Ces palissades sont surtout marquées vers la partie supérieure de l'embryon.

Morphologie de la germination.

Il n'y a pas lieu d'insister longuement sur la morphologie externe de la plantule qui a été décrite par de Mirbel et L.-C. Richard. La germination débute par l'allongement de la partie moyenne de l'embryon, ce qui amène à l'extérieur de la graine son extrémité radiculaire, puis cet allongement ayant cessé, la gemmule et la radicule se développent (fig. 11), celle-ci accompagnée bientôt de nombreuses racines latérales qui ne se distinguent pas, par leur aspect extérieur, de la première

Digitized by Google

racine. La première feuille enveloppe toutes les autres et se trouve elle-même entourée par une expansion de la gaine du cotylédon, lui formant une sorte de ligule (*l*, fig. 11). Le sommet du cotylédon grossit légèrement en suçant l'albumen

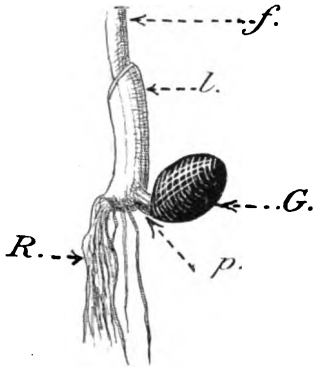


Fig. 11. — *Canna*, jeune plantule (grandeur naturelle). — G, graine ; R, racines ; *p*, pétiole du cotylédon ; *l*, ligule du cotylédon ; *f*, première feuille.

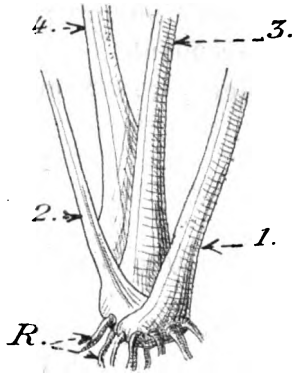


Fig. 12. — *Canna coccinea*. Base d'une jeune plante dont le cotylédon est tombé (grandeur naturelle). — 1, 2, 3, 4, pétioles des feuilles successives ; R, racines latérales.

de la graine. Plus tard, le cotylédon, son pétiole et la gaine se se flétrissent et tombent en entraînant le tégument de la graine. L'ensemble de la base des feuilles grossit et se fixe au sol par de nombreuses racines latérales, dont la grosseur n'est pas supérieure à celle de la première racine (R, fig. 12).

Anatomie de la plantule.

Le début de la germination est marqué par l'allongement de toutes les cellules qui forment la partie moyenne ou cou de l'embryon. Ces cellules, qui étaient isodiamétriques, deviennent très allongées dans le sens longitudinal et cela suffit à produire un allongement de l'ensemble.

C'est par le même processus que le suçoir acquiert des dimensions plus considérables. Dans aucun de ces deux cas, des cloisonnements ne se produisent pour concourir à l'augmentation de volume des organes considérés.

L'ensemble de l'extrémité radiculaire augmente également de volume, puis le collet cessant de s'éloigner de la graine, la gemmule et la radicule se développent.

Digitized by Google

La radicule, dont la différenciation est achevée dans l'embryon non germé, s'allonge et apparaît au dehors en exfoliant sa gaine. Les racines latérales se développent, au contraire, par digestion. La gemmule s'allonge de son côté et le tissu qui l'entoure prolifère autour d'elle, lui formant une gaine ascendante.

Elle finit par s'échapper par la fente cotylédonaire.

II. — MUSACÉES.

1. Ravenala.

Ravenala madagascariensis Sonnerat.

Embryon.

Chez cette espèce l'embryon, de forme assez peu régulière, se compose d'une partie étroite tournée vers le micropyle et d'une partie plate ou renflée en massue qui forme la plus grande partie de sa masse. Dans la partie micropylaire se trouvent enfermées la gemmule et la radicule, alors que la partie renflée constitue le suçoir, parcouru par des faisceaux libéro-ligneux. L'axe de la gemmule et celui de la radicule ne sont pas dans le prolongement

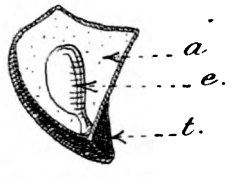


Fig. 13. — *Ravenala madagascariensis* Sonnerat. Coupe longitudinale dans une graine (Grossi 2 fois). — *a*, albumen ; *t*, tégument ; *e*, embryon.

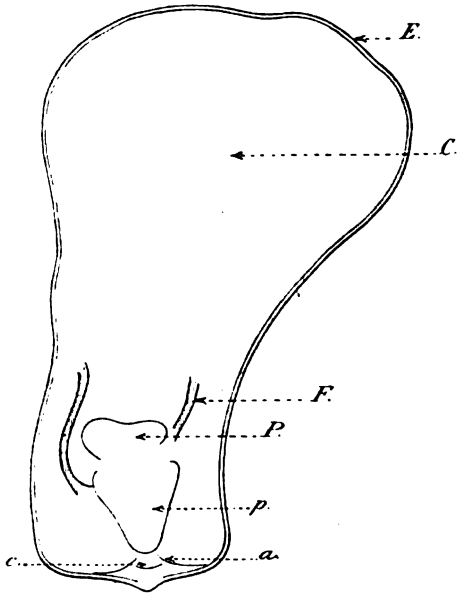


Fig. 14. — *Ravenala madagascariensis* Sonnerat. — Coupe longitudinale schématique de l'embryon. — E, épiderme général ; C, cotylédon ; F, faisceaux du cotylédon ; P, gemmule ; *p*, cylindre central de la radicule ; *a*, écorce de la radicule ; *c*, coiffe de la radicule.

Digitized by Google

l'un de l'autre, mais forment entre eux un angle de 150° environ. Le cylindre central de la radicule est bien développé et plus ou moins bien distinct de l'écorce, limitée elle-même à l'extérieur par une assise pilifère nette. Cette assise pilifère se raccorde avec la seconde ou la troisième des assises de cellules situées au-dessous de l'épiderme général de l'embryon.

Dans la figure de M. Tschirch reproduite plus haut, c'est le cylindre central de la radicule que représente la partie hachée désignée par la lettre W (Wurzel = racine).

Les premiers cloisonnements de la coiffe sont visibles à l'extérieur de la pointe de la radicule, et cette coiffe est elle-même recouverte par un massif de cellules à parois un peu plus épaisses et disposées irrégulièrement. Enfin, tout ceci est limité vers l'extérieur par l'épiderme général de l'embryon, interrompu, vis-à-vis de la pointe de la radicule, par une assise irrégulière de cellules marquant la place du suspenseur. La gemmule ne se compose guère que d'une feuille différenciée, entourant le cône végétatif. Le cotylédon est parcouru par des faisceaux libéro-ligneux peu nombreux dans la partie supérieure du cotylédon et disposés régulièrement à la périphérie de cet organe ; ils se rapprochent vers le centre et prennent, à la base de la partie renflée de l'embryon, une disposition symétrique par rapport à un plan, ce plan passant par l'un des faisceaux libéro-ligneux qui apparaît comme la nervure médiane de la feuille cotylédonaire. La gemmule, étant recourbée, a sa pointe

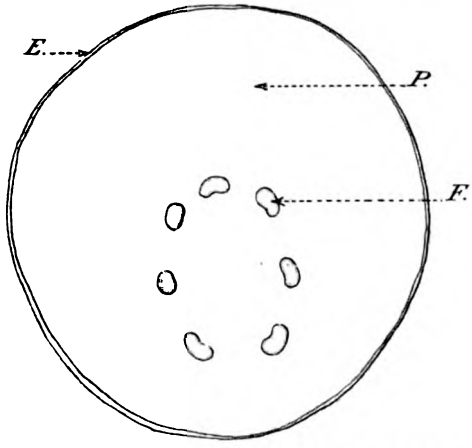


Fig. 15. — Coupe transversale schématique dans la partie moyenne de l'embryon de *Ravenala madagascariensis* Sonnerat. — E, épiderme général de l'embryon ; P, parenchyme cotylédonaire ; F, faisceaux libéro-ligneux du cotylédon montrant une disposition symétrique par rapport à un plan, ce plan de symétrie passant par le faisceau médian.

Digitized by Google

séparée de l'extérieur par une fente, tapissée par un épiderme se reliant à l'épiderme général de l'embryon. La plus grande partie des faisceaux libéro-ligneux du cotylédon se groupent en arc de cercle derrière la base de la gemmule dans les feuilles

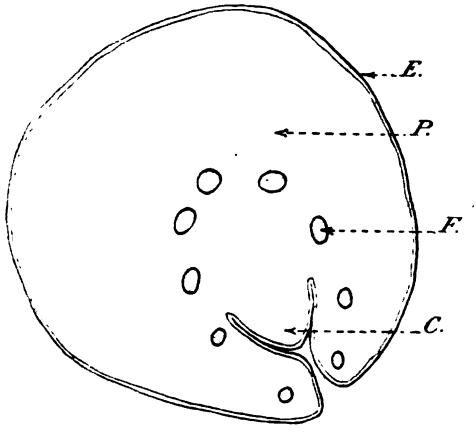


Fig. 16. — Coupe transversale schématique de l'embryon de *Ravenala madagascariensis* Sonnerat, au niveau de la gemmule. — E, épiderme général de l'embryon; P, parenchyme cotylédonaire ; F, faisceaux libéro-ligneux du cotylédon : C, gemmule.

de laquelle ils envoient des branches, et pénètrent dans la radicule. Deux d'entre eux traversent les lèvres de la fente cotylédonaire devant la gemmule, se recourbent au-dessous de celle-ci et pénètrent dans la radicule.

Le parenchyme cotylédonaire est formé de cellules assez grandes, polygonales, isodiamétriques, et ne laissant pas entre elles de méats. Elles sont de plus petite taille, mais de forme à peu près semblable, dans les portions du cotylédon qui environnent la gemmule et la radicule.

L'ensemble est entouré, ainsi qu'il a été dit plus haut, par l'épiderme général de l'embryon qui, formé de cellules peu allongées à la partie supérieure de celui-ci, devient au contraire palissadique dans ses parties moyenne et inférieure.

Morphologie de la germination.

La germination est admotive. Il se forme, tout contre la graine, un renflement d'où s'échappent successivement la

Digitized by Google

première racine et la gemmule. Ce renflement est d'ailleurs peu marqué.

La germination est ligulée, c'est-à-dire qu'en se développant,

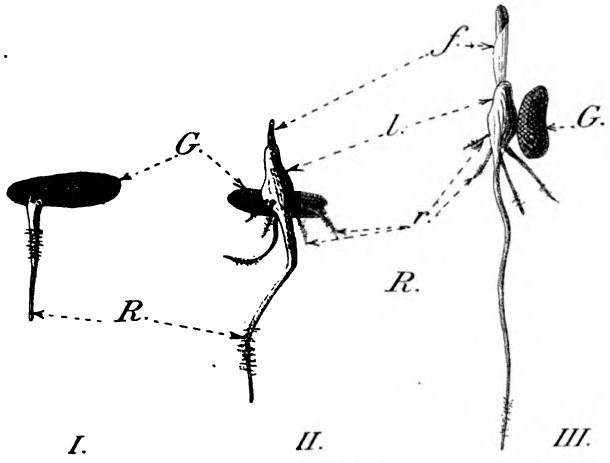


Fig. 17. — *Ravenala madagascariensis* Sonnerat. 2/3 grandeur naturelle. — I, II, III, stades successifs de la gemination. — G, graine ; R, racine principale ; *f*, première feuille ; *l*, gaine ascendante ou ligule du cotylédon ; *r*, racines latérales.

la gemmule entraîne avec elle une gaine ascendante qui prolifère autour d'elle. De nombreuses racines latérales se produisent ensuite, dont le diamètre est plus petit que celui de la première racine. Elles sont toutes munies, de même que celle-ci, de poils absorbants.

Anatomie de la plantule.

Le début de la germination est marqué par l'allongement de la partie moyenne de l'embryon, qui a pour effet de faire apparaître hors de la graine l'extrémité radiculaire de celui-ci. L'allongement de la partie moyenne de l'embryon se produit grâce à l'allongement de chacune des cellules qui le forment. Il cesse bientôt, l'extrémité radiculaire de l'embryon se renfle et la radicule en sort en exfoliant les assises de cellules qui le séparent de l'extérieur. Cette exfoliation est très visible sur une coupe longitudinale faite dans une jeune plantule. On voit, ainsi que le représente le schéma ci-contre (fig. 18), l'épiderme

Digitized by Google

général de l'embryon relevé et exfolié, de même que les deux assises de cellules sous-jacentes.

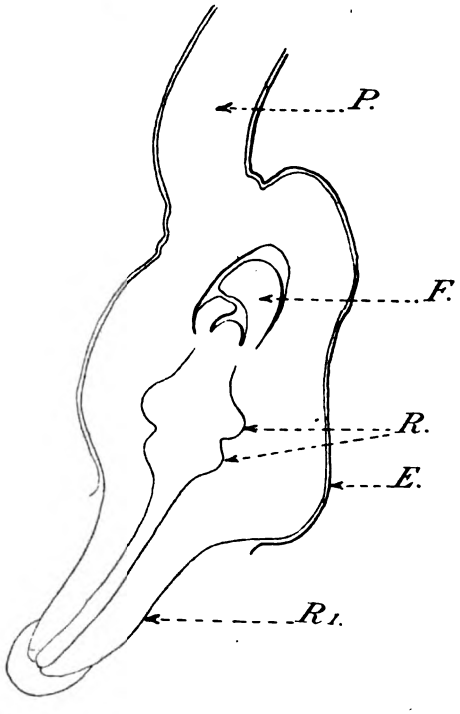


Fig. 18. — Coupe longitudinale schématique d'un embryon de *Ravenala madagascariensis* Sonnerat au début de sa germination. — P, pètiole du cotylédon; F, gemmule ; R, racines latérales ; R_1, racine principale qui a exfolié sa gaine ainsi que l'épiderme général de l'embryon E.

La gemmule se développe au-dessous des bords de la fente cotylédonaire qui, proliférant autour d'elle, lui forme une gaine ascendante au ligule.

2. Strelitzia.

Strelitzia augusta Thunb.

Embryon.

L'embryon est très allongé et renflé en massue vers celle de ses extrémités qui est la plus éloignée de la radicule. Cette extrémité représente le cotylédon. La partie la plus étroite, dirigée vers le micropyle, contient la gemmule et la radicule,

Digitized by Google

qui ne sont pas dans le prolongement l'une de l'autre, mais dont les axes forment entre eux un angle de 150° environ. Cette partie de l'embryon est très différenciée. On distingue

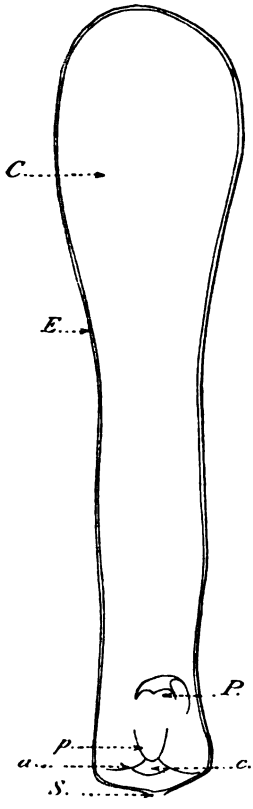


Fig. 20. — Coupe longitudinale schématique dans un embryon de *Strelitzia angusta* Thunb. — C, cotylédon ; E, épiderme général de l'embryon ; P, gemmule ; S, reste du suspenseur ; *p*, cylindre central de la radicule ; *a*, écorce de la radicule ; *c*, coiffe de la radicule.

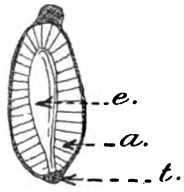


Fig. 19. — Coupe longitudinale dans une graine de *Strelitzia augusta* Thunb. (Grossi de un tiers). — *e*, embryon ; *a*, albumen ; *t*, tégument de la graine.

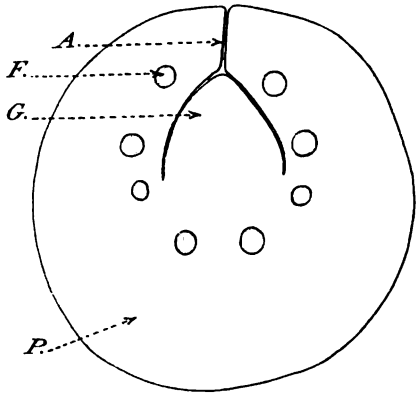


Fig. 21. — *Strelitzia augusta* Thunb. — Coupe transversale schématique de l'embryon au niveau de la gemmule. — A, fente cotylédonaire ; F, faisceaux libéro-ligneux du cotylédon ; G, gemmule ; P, parenchyme du cotylédon.

nettement le cylindre central de la radicule, son écorce, l'assise pilifère et la coiffe. L'assise pilifère vient se raccorder avec l'assise de cellules qui est située immédiatement au-dessous de l'épiderme général de l'embryon. La coiffe est séparée de l'extérieur par quelques assises de cellules, non spécialement différenciées et par l'épiderme général de l'embryon qui perd sa régularité là où se trouvait le suspenseur.

Digitized by Google

Le cotylédon est parcouru dans toute sa longueur par des faisceaux libéro-ligneux formant un cercle au voisinage de sa surface. Ces faisceaux sont au nombre de six dans la partie supérieure de l'embryon ; dans sa partie moyenne, ils sont plus nombreux : douze ou treize. Plus bas, dans la partie de l'embryon où se trouve la gemmule, ils se trouvent disposés symétriquement par rapport à un plan, ce plan de symétrie ne passant par aucun faisceau (fig. 21).

Morphologie de la germination.

Je n'ai pu observer la germination du *Strelitzia augusta*, mais j'ai eu l'occasion d'observer de jeunes plantules appartenant à une espèce indéterminée du genre *Strelitzia*.

Ces plantules s'étaient développées suivant le mode remotif ligulé. Elles étaient remarquables par l'abondance des poils absorbants qui recouvraient non seulement la racine, mais encore la gaine cotylédonaire. Un fait de cette nature était déjà connu chez certaines espèces de *Trachycarpus*.

3. Musa.

1° *Musa religiosa*.

Embryon.

La forme de l'embryon dans le genre *Musa* est bien connue. C'est un corps cylindrique qui se continue du côté opposé à l'extrémité radiculaire par une sorte de large plateau légèrement évidé en forme de coupe.

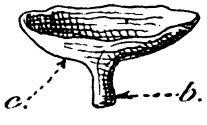


Fig. 22. — Embryon du *Musa religiosa*. — *c*, cotylédon ; *b*, extrémité radiculaire.

Ce plateau, directement en contact avec l'albumen, constitue le suçoir. Dans la partie cylindrique se trouvent la gemmule et la radicule, qui font entre elles un angle un peu supérieur à 90°.

La radicule présente, comme dans le cas du *Musa ensete* Gmel., un cylindre central bien développé et bien différencié. On distingue également, sur ses côtés, l'écorce, dont les assises

Digitized by Google

les plus internes sont disposées en séries radiales très régu-

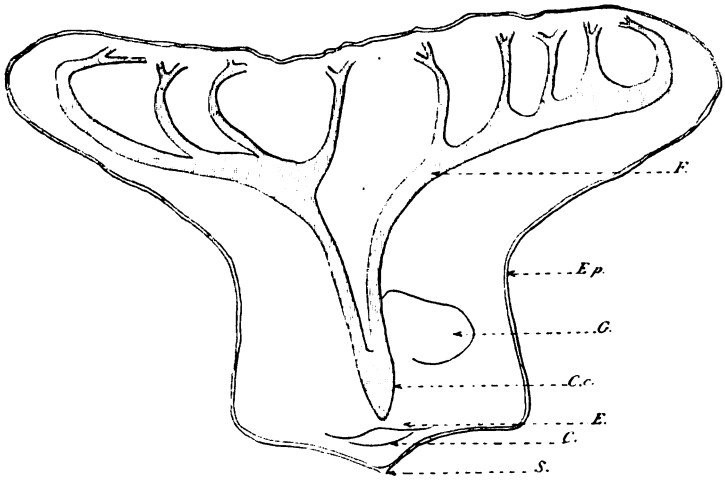


Fig. 23. — Coupe longitudinale schématique de l'embryon du *Musa religiosa*. — F, faisceaux libéro-ligneux ; E*p*, épiderme général ; G, gemmule ; C*c*, cylindre central de la radicule ; E, écorce de la radicule ; C, coiffe de la radicule ; S, reste du suspenseur.

lières. A la pointe de ces formations, on distingue des cellules en voie de cloisonnement qui constituent la future coiffe. Cette coiffe se distingue seulement de l'écorce par le sens des cloisonnements de ses éléments, car il n'y a pas d'assise pilifère nette.

Tout ceci est complètement noyé dans le tissu cotylédonaire, sauf vers la partie basilaire de la radicule où celle-ci est en contact avec les tissus qui constituent la gemmule.

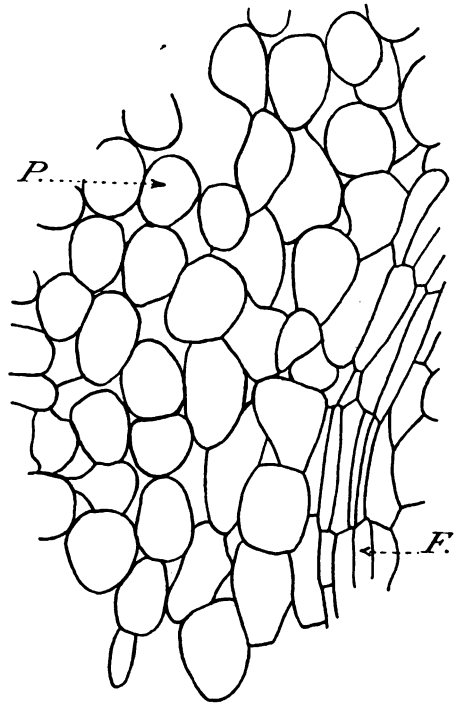


Fig. 24. — Coupe transversale dans le cotylédon de l'embryon de *Musa religiosa*, partie centrale. — F, faisceau libéro-ligneux coupé longitudinalement ; P, parenchyme cotylédonaire à méats.

Digitized by Google

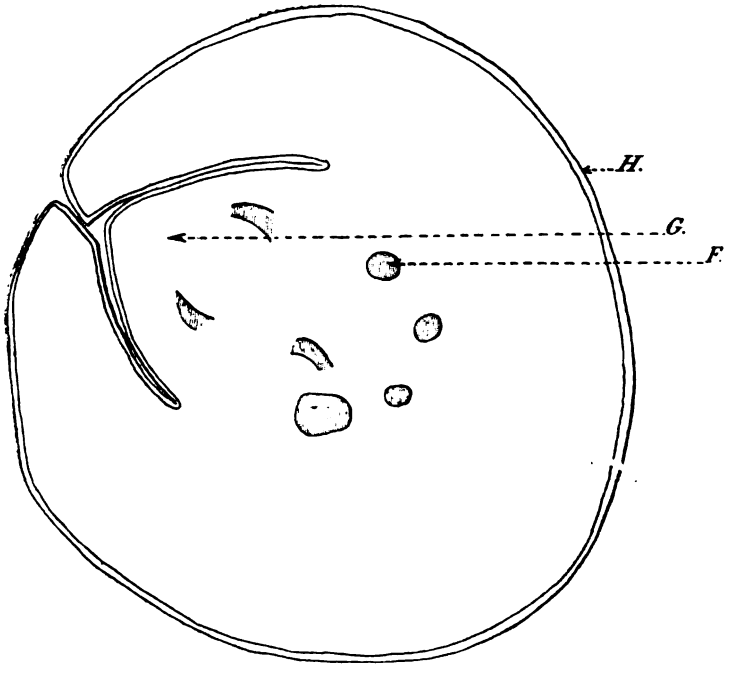


Fig. 25. — *Musa religiosa*. Coupe transversale schématique de l'embryon au-dessus de la gemmule. — H, épiderme ; G, gemmule (partie supérieure) ; F, faisceaux libéro-ligneux.

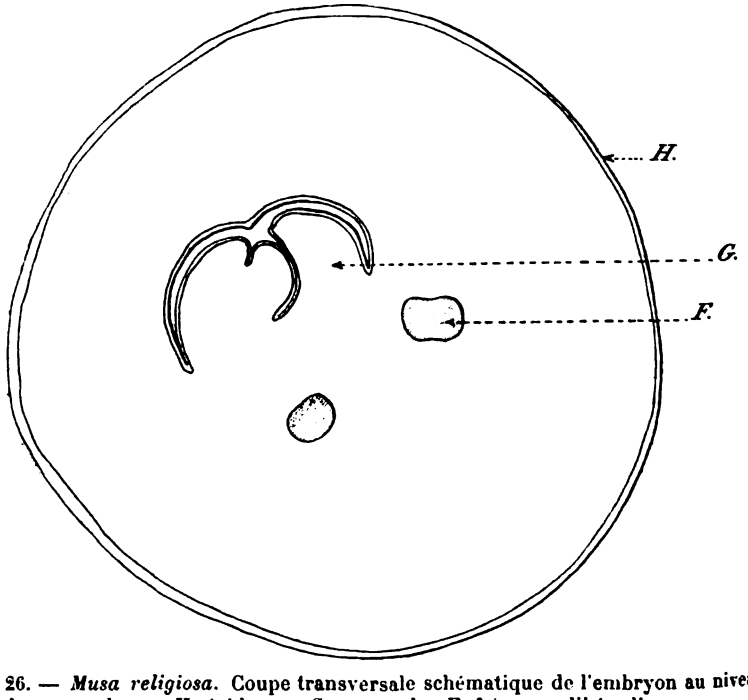


Fig. 26. — *Musa religiosa*. Coupe transversale schématique de l'embryon au niveau de la gemmule. — H, épiderme ; G, gemmule ; F, faisceaux libéro-ligneux.

Digitized by Google

On aperçoit encore, sur les côtés de la radicule, des massifs cellulaires qui ne sont autre chose que des racines latérales.

La gemmule se compose de deux feuilles bien développées. Elle communique avec l'extérieur par une fente, tapissée par un épiderme, et dont les deux lèvres se rabattent l'une sur l'autre.

La plus grande partie du cotylédon est formée par cette sorte de plateau qui surmonte la partie cylindrique de l'embryon, mais la gemmule et la radicule sont entourées complètement, ainsi que nous l'avons vu, par du tissu cotylédonaire.

Ce tissu est réduit à quelques assises vis-à-vis de la pointe de la radicule, à laquelle il forme une gaine radiculaire. Le cotylédon est recouvert d'un épiderme palissadique très régulier, sauf vis-à-vis de la pointe de la radicule, où l'on voit nettement la trace du suspenseur.

Le cotylédon est formé par des cellules sensiblement sphériques qui, dans la partie centrale du plateau cotylédonaire, laissent entre elles de nombreux méats. Elles sont au contraire très serrées au-dessous de l'épiderme.

Il est parcouru par des faisceaux libéroligneux dont la course est représentée dans le schéma de la figure 23.

Ce schéma ne représente que la moitié de l'appareil vasculaire. Tous les faisceaux se réunissent pour se grouper en quatre faisceaux, placés symétriquement. Plus bas, ils se réunissent encore pour ne plus former que deux masses vasculaires derrière la base de la gemmule. Ces masses se divisent en un grand nombre d'autres au moment où elles entrent dans la gemmule et dans la radicule.

Morphologie de la germination.

La graine, au début de la germination, laisse apparaître l'extrémité radiculaire de l'embryon, celui-ci s'étant allongé dans sa partie moyenne et ayant repoussé le couvercle qui le séparait de l'extérieur.

L'extrémité radiculaire se renfle en un bourrelet duquel

Digitized by Google

s'échappent les premières racines, la première ne se distinguant pas des autres, et, plus tard, la gemmule. La plantule continuant à se développer, il se produit des racines en grand nombre, mais ne différant pas les unes des autres par la taille. Il est d'ailleurs à remarquer que, chez les *Musa*, les racines latérales, très nombreuses, sont toutes de même grosseur que la première racine. Ce n'est que beaucoup plus tard qu'apparaissent des racines de taille plus forte.

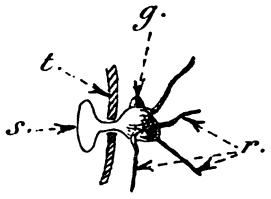


Fig. 27. — *Musa religiosa*. Début de la germination (grandeur naturelle). — *t*, tégument de la graine ; *s*, cotylédon ou suçoir; *g*, gemmule ; *r*, première racine et racines latérales.

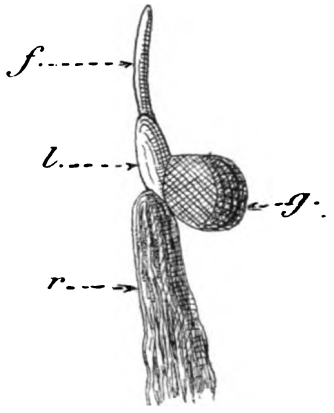


Fig. 28. — *Musa religiosa*. Jeune plantule (grandeur naturelle). — *f*, première feuille végétative enveloppant les autres ; *l*, ligule ou gaine ascendante du cotylédon ; *g*, graine ; *r*, racines.

La gemmule continue de son côté son développement, en s'entourant d'une gaine cotylédonaire. En un mot, la germination est admotive.

Le cotylédon contenu dans la graine, où il joue le rôle de suçoir, grossit notablement, sans arriver d'ailleurs à remplir toute la cavité de la graine, comme cela a lieu chez les Palmiers.

Anatomie de la plantule.

Le début de la germination est marqué par l'allongement des cellules de la partie cylindrique de l'embryon situées immédiatement au-dessous du plateau cotylédonaire. Cet allongement a pour résultat de faire apparaître au dehors de la graine l'extrémité radiculaire de l'embryon qui, par l'augmentation du volume de chacune de ses cellules, se renfle en une sorte de bouton appliqué tout contre la graine.

La radicule et la gemmule se développent alors. La radicule

Digitized by Google

s'allonge et son écorce et sa coiffe deviennent en même temps plus distinctes, mais leurs limites précises ne se manifestent pas encore. Pendant ce mouvement d'accroissement, la radicule exfolie sa gaine.

L'assise pilifère n'est pas encore apparue au moment où se produit cette exfoliation, mais la coiffe se distingue nettement par ses cloisonnements répétés.

La gemmule se développe également au-dessous de la gaine qui prolifère autour

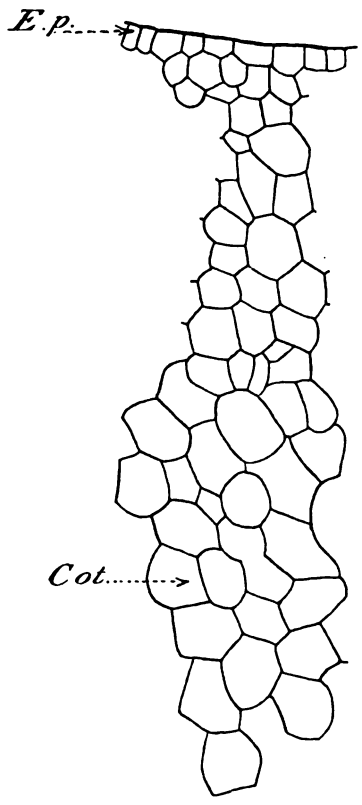


Fig. 29. — *Musa religiosa*. Coupe longitudinale dans le cotylédon d'un embryon n'ayant pas germé. — *Ep*, épiderme ; *Cot*, parenchyme cotylédonaire.

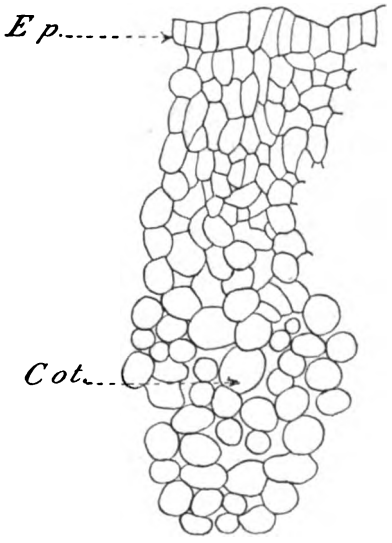


Fig. 30. — *Musa religiosa*. Coupe longitudinale dans le cotylédon d'une plantule en germination. — *Ep*, épiderme du cotylédon ; *Cot.*, parenchyme du cotylédon.

d'elle, et s'échappe finalement par la fente cotylédonaire.

Les racines latérales se développent très vite et s'échappent du tissu qui les entoure en le digérant.

Le cotylédon, en accomplissant ses fonctions de suçoir, s'accroît d'une manière très notable. Cet accroissement est dû, comme chez les Palmiers, à une augmentation de volume de

Digitized by Google

toutes les cellules qui composent cet organe, ainsi qu'on peut s'en rendre compte en comparant les figures 29 et 30 dessinées au même grossissement.

2° *Musa Arnoldiana* de Wildem et *Musa ensete* Gmel.

La première de ces deux espèces ne présente rien qui la distingue notablement du *Musa religiosa* qui vient d'être étudié. La seconde a déjà fait l'objet d'une précédente étude (1). Nous remarquerons cependant que chez ces deux espèces, l'accroissement du cotylédon est très notable. Pendant la germination cet organe fait plus que doubler de volume.

3° *Musa coccinea* Andr.

Cette espèce est remarquable par la petite taille de ses embryons, dont la hauteur ne dépasse pas 1 millimètre, alors

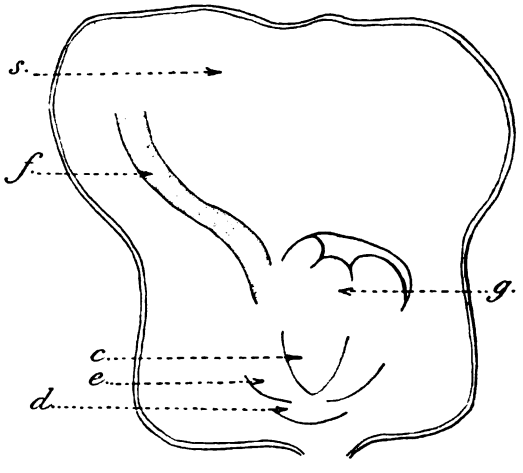


Fig. 31. — *Musa coccinea*. Coupe longitudinale schématique d'un embryon n'ayant pas germé. — *s*, cotylédon; *f*, faisceau libéro-ligneux; *g*, gemmule; *c*, cylindre central de la radicule; *e*, écorce de la radicule; *d*, coiffe de la radicule.

que celle des embryons des autres espèces atteint 2 millimètres et plus.

De plus, le plateau cotylédonaire est peu élargi et peu aplati.

(1) C.-L. Gatin, *Sur la radicule embryonnaire*, etc.

Digitized by Google

Les autres caractères généraux sont les mêmes que ceux des embryons du genre *Musa* que nous venons d'étudier. Je n'ai pas obtenu de germination des graines de cette espèce.

4. Heliconia.

1° *Heliconia Bihaï* L.

Embryon.

Le cotylédon en forme la masse principale. Il est très allongé et sa longueur représente les 7/8es de la longueur totale. Dans le dernier huitième se trouvent inclus la gemmule et la radicule, dont les axes forment entre eux un angle de 120° environ.

La radicule est encore peu différenciée, on ne distingue nettement que son cylindre central. La pointe de ce cylindre central est séparée de l'épiderme général de l'embryon par dix assises de cellules environ, dont les plus internes sont en voie de cloisonnement. On distingue cependant, sur les côtés de ce cylindre central, des massifs cellulaires très denses qui sont l'ébauche des premières racines latérales.

La gemmule est formée de deux feuilles. Elle est séparée de l'extérieur par une fente à bords accolés.

Tout ceci est noyé dans le parenchyme général du cotylédon, formé de cellules allongées dans la partie supérieure de cet organe, et de cellules isodiamétriques, polygonales, autour de la gemmule et de la radicule. Toutes ces cellules sont très serrées à la périphérie du cotylédon, alors qu'au contraire elles laissent entre elles des méats lorsqu'elles sont situées vers la partie centrale.

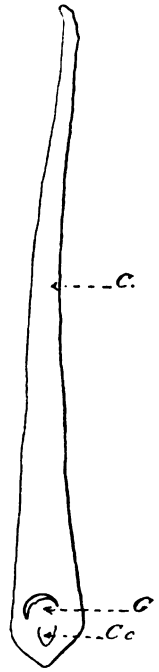


Fig. 32. — *Heliconia caribea*. Coupe longitudinale schématique de l'embryon. — C, cotylédon ; G, gemmule ; Cc, cylindre central de la radicule.

Le cotylédon est parcouru, dans toute sa longueur, par deux faisceaux libéro-ligneux déjà très différenciés. Ces faisceaux se

Digitized by Google

rapprochent à mesure que l'on descend vers l'embryon et prennent peu à peu la forme de croissants à pointes mousses qui se réunissent par l'une de ces pointes pour former derrière la base de la gemmule un arc de tissu vasculaire qui se continue avec le tissu vasculaire du cylindre central de la radicule.

Tout cet ensemble est recouvert par un épiderme palissadique très régulier, qui fait place, vis-à-vis de la pointe de la radicule, à des cellules irrégulières qui ne sont autre chose que la trace du suspenseur.

Morphologie de la germination.

La graine germe suivant le mode admotif. Il se produit, au début de la germination, un allongement de la partie de l'embryon située immédiatement au-dessus de la gemmule, ceci amène au dehors l'extrémité radiculaire qui se renfle en un bourrelet d'où s'échappent la première racine, les racines latérales et la gemmule, qui s'entoure à sa base d'une gaine. Les racines latérales ne se distinguent extérieurement de la radicule ni par leur grosseur ni par leur position.

Anatomie de la plantule.

L'allongement des cellules de la partie moyenne de l'embryon, puis l'augmentation de volume de toutes les cellules de l'extrémité radiculaire de l'embryon amènent successivement l'apparition à l'extérieur de cette extrémité radiculaire et la formation d'une sorte de bourrelet ou bouton tout contre la graine.

A l'intérieur de ce bourrelet, la gemmule et la radicule achèvent leur différenciation.

La radicule se différencie d'abord sur place. Les cloisonnements de sa coiffe, très nombreux, différencient cet organe, qui reste séparé de l'extérieur par plusieurs assises de cellules.

L'écorce se limite par une assise pilifère, souvent irrégulière et se formant dans plusieurs assises de cellules. La racine ainsi

Digitized by Google

constituée, poursuivant son développement, s'échappe de sa gaine en exfoliant celle-ci alors que les racines latérales apparaissent à l'extérieur en digérant les tissus qui leur barrent le chemin.

La gemmule se développe en même temps en s'entourant d'une ligule à sa base.

2° *Heliconia nitens* Hort.

Dans cet espèce, l'embryon de la graine mûre présente les mêmes caractères et le même état de différenciation que celui

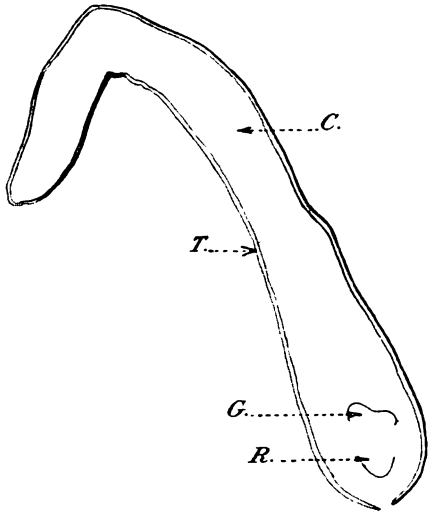


Fig. 33. — *Heliconia nitens.* Coupe longitudinale schématique de l'embryon. — C, cotylédon; T, épiderme général ; G, gemmnle ; R, cylindre central de la radicule.

des espèces précédentes, avec cette différence toutefois, qu'il est courbe au lieu d'être droit.

La germination n'a pas pu en être effectuée.

3° *Heliconia speciosa* Hort.

L'embryon, droit, présente les mêmes caractères que celui de l'*Heliconia Bihaï.*

Digitized by Google

4° *Heliconia metallica* Lind.

L'embryon de cette espèce présente les caractères communs à ceux de toutes les espèces d'*Heliconia* que nous avons étudiées jusqu'ici, avec cette particularité, que possède également l'embryon de *Heliconia nitens*, d'avoir une extrémité courbe.

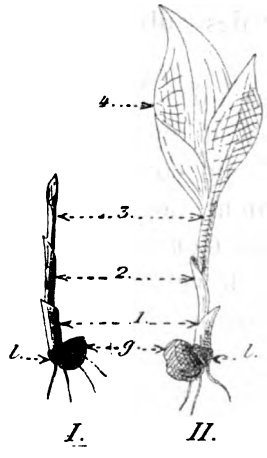


Fig. 34. — *Heliconia metallica* Planchon. — I, II, deux stades successifs de la germination. — *g*, graine; *l*, ligule du cotylédon; 1, 2, 3, 4, feuilles successives.

5° *Heliconia brasiliensis* Hook.

Cette espèce est remarquable par la forme très particulière que présente son embryon. Celui-ci se trouve d'ailleurs dans un état de différenciation tout à fait semblable à celui de l'embryon des autres espèces d'*Heliconia*.

Sa germination est admotive.

RÉSULTATS GÉNÉRAUX

1° Structure de l'embryon.

L'embryon des genres *Canna*, *Ravenala*, *Strelitzia*, *Musa* est remarquable par son état de très grande différenciation, marqué surtout chez les trois premiers genres. Outre la gemmule, qui y est bien développée, la radicule présente ses diverses parties bien nettement visibles. L'assise pilifère existe seulement dans les trois premiers genres ; chez les *Musa*, elle ne se développe qu'au début de la germination.

Le genre *Heliconia* se distingue des autres genres de Musacées non seulement par l'allongement très grand de ses embryons, mais surtout par le retard qu'ils présentent dans leur différenciation. La gemmule y est réduite à un cône un peu mamelonné à la base, et la radicule ne comporte que le cylindre

Digitized by Google

central, l'écorce et la coiffe n'étant pas encore différenciées de l'ensemble du tissu embryonnaire.

Par ce caractère, le genre *Heliconia* s'écarte des autres Musacées.

Il n'est pas sans intérêt de rappeler que, dans la classification, le genre *Heliconia* se distingue également des autres Musacées par les caractères de son fruit.

La radicule est toujours endogène, mais à des degrés variés. Ainsi, chez le *Strelitzia augusta*, elle est le moins profondément située : son assise pilifère est en continuité avec l'assise de cellules située immédiatement au-dessous de l'épiderme général de l'embryon. Chez les *Canna*, les *Musa*, elle est plus profonde. Le cylindre central de cette radicule est ce que les auteurs désignaient sous le nom de « radicule ». Il apparaît comme une masse plus sombre sur une coupe faite dans un embryon frais, et que l'on regarde à la loupe.

L'axe de la gemmule et celui de la radicule ne sont pas, chez toutes ces espèces, dans le prolongement l'un de l'autre, mais font entre eux des angles variables, compris entre 90° et 120° environ. La structure du cotylédon présente plusieurs points sur lesquels il est intéressant d'insister.

Le tissu cotylédonaire, serré à la périphérie du suçoir, est lâche au centre, où il présente de nombreux méats. Il est formé de cellules polygonales ou arrondies, isodiamétriques, qui sont de dimensions relativement beaucoup plus petites aux environs de la radicule et de la gemmule que dans la partie du cotylédon destinée à devenir le suçoir.

La course des faisceaux libéro-ligneux est variable dans les divers cotylédons. Cependant, les faisceaux sont toujours en grand nombre vers la partie supérieure de l'embryon. Ils s'anastomosent à mesure que l'on se rapproche de la gemmule alentour de laquelle ils se disposent d'une façon régulière.

Ils forment parfois un arc de cercle continu (*Heliconia*). Le plus généralement, ils se disposent en arc de cercle sans se toucher les uns les autres. Le plan de symétrie de cet arc de cercle peut passer par l'un d'eux (*Ravenala*) ou ne passer par aucun d'eux (*Strelitzia*, *Musa*).

Digitized by Google

Le tissu cotylédonaire présente toujours une fente longitudinale vis-à-vis de la gemmule.

Enfin, l'ensemble de l'embryon est recouvert par un épiderme continu, sauf à l'endroit du suspenseur.

2° Morphologie externe de la germination.

Remarquons tout d'abord que toutes ces espèces germent suivant le mode ligulé, ce qui est en rapport avec la structure, leurs embryons. En effet, j'ai montré (1) antérieurement que dans la famille des Palmiers, les embryons germaient suivant le mode tubulé ou suivant le mode ligulé, selon que les axes de leur gemmule et de leur radicule se trouvaient, ou non, dans le prolongement l'un de l'autre.

Chez toutes ces espèces, les racines latérales se développent de bonne heure et on ne peut les distinguer de la racine principale. De ceci il faut excepter le genre *Strelitzia*, chez lequel la racine principale reste la seule, au moins pendant un certain temps.

Enfin rappelons qu'une germination de *Strelitzia* sp. du Brésil, dont nous avons fait la description, présentait des poils absorbants sur le pétiole et la gaine de son cotylédon. C'est là un fait assez peu commun et qui n'a été, à ma connaissance, signalé jusqu'ici que chez les *Trachycarpus Martiana* Wendl (2) et, plus récemment, chez le *Coydalis solida* (3).

3° Anatomie de la plantule.

La croissance de la partie moyenne du cotylédon, qui a pour résultat d'amener la partie radiculaire de l'embryon à l'extérieur de la graine, se produit toujours grâce à l'allongement des cellules de cette région qui, avons-nous dit, sont plus petites que celles du suçoir dans l'embryon même.

C'est également par augmentation du volume des cellules

(1) C.-L. Gatin, *Recherches anatomiques et chimiques*, etc.
(2) C.-L. Gatin, *Recherches anatomiques et chimiques*, etc.
(3) Velenovsky, *Vergleichende Morphologie der Pflanzen*, Teil II, p. 298. Prag. Fr. Rivnac, 1907.

Digitized by Google

qui le composent que s'accroît le cotylédon. Il n'y a pas ici, plus que chez les Palmiers, de cloisonnements nouveaux. D'ailleurs, l'accroissement du cotylédon y est beaucoup moindre, bien que cet organe puisse, dans certains cas, doubler de volume (*Musa Arnoldiana* de Wildem).

La racine principale achève sa différenciation, s'il y a lieu, pendant que s'accroît la partie radiculaire de l'embryon. Cette différenciation présente des particularités qui rappellent celles que j'ai eu l'occasion d'observer chez certains Palmiers (*Archontophœnix Cunninghamiana* W. et Dr.). C'est ainsi par exemple que chez *Heliconia Bihaï*, l'assise pilifère de la racine principale se forme d'une manière irrégulière par de nombreux cloisonnements qui, en certains points, se produisent à la fois dans des files de cellules superposées, de sorte qu'en ces endroits, la racine semble avoir plusieurs assises pilifères.

La première racine apparaît toujours au dehors en exfoliant sa gaine, tandis que les racines latérales digèrent, en se développant, les tissus qui les séparent de l'extérieur.

La gaine ascendante du cotylédon se forme autour de la gemmule comme celle des Palmiers à germination admotive : les cellules qui la constituent s'allongent, se cloisonnent perpendiculairement à la direction générale de l'allongement, puis les cellules formées s'allongent à leur tour. Cela amène l'allongement de l'ensemble de l'organe.

4° Conclusions.

Voici maintenant quels sont les résultats auxquels cette étude nous a conduit :

1° Les recherches qui précèdent établissent avec précision quelle est la structure des diverses parties de l'embryon des Cannacées et des Musacées.

2° Ces embryons sont, le plus généralement, remarquables par l'état avancé de leur différenciation et ils se distinguent, à ce point de vue, des embryons de Palmiers à germination admotive. Ils s'en distinguent encore par la moins grande endogénéité de leur radicule, dont l'assise pilifère continue,

Digitized by Google

dans le cas du *Strelitzia*, l'assise sous-épidermique de l'embryon.

Si l'on considère la série des familles suivantes:

Graminées, — Palmiers, — Musacées, — Alismacées,

on s'aperçoit que les embryons appartenant à cette série présentent des radicules de moins en moins endogènes. La radicule des Graminées, très endogène, sort de sa gaine par digestion; il en est de même de celle de certains *Calamus* et *Pinanga* (Palmiers) (1). Chez la majorité des Palmiers, la radicule, située plus ou moins profondément, s'échappe en exfoliant sa gaine. Elle est de moins en moins profonde chez les Musacées pour arriver enfin, chez le *Strelitzia*, à correspondre à l'assise sous-épidermique de l'embryon. Chez l'*Alisma Plantago* (2), qui constitue le terme ultime de cette série, elle est la continuation de l'épiderme général de l'embryon.

3° Il est intéressant d'insister sur ce fait que dans la famille des Musacées le genre *Heliconia*, qui est placé à part dans la classification, se distingue également des autres Musacées par les caractères de faible différenciation de son embryon.

4° Dans ce genre *Heliconia* comme chez un grand nombre de Palmiers le cylindre central est différencié avant les autres parties de la radicule.

5° L'accroissement du cotylédon est beaucoup plus faible chez les plantes qui viennent d'être étudiées que chez les Palmiers. Cet accroissement se fait par augmentation du volume des cellules qui composent le cotylédon et non par des cloisonnements nouveaux.

6° Comme chez les Palmiers, la germination est en rapport, dans sa morphologie externe, avec la courbure de l'axe de la plantule embryonnaire. La germination comporte, comme chez les Palmiers, deux phases, la première correspond à l'allongement externe du cotylédon. Elle cesse lorsque le collet de la jeune plante ne s'éloigne plus de la graine pour faire

(1) C.-L. Gatin, *Recherches anatomiques et chimiques*, etc.

(2) Haustein, *Die Entwickelung des Keimes de rMonocotylen und Dicotylen* (Botanische Abhandlungen, p. 1-99, pl. I-XVIII, Bonn, 1870).

Digitized by Google

place à la seconde phase, qui est la phase de germination proprement dite.

7° Nous avons vu que les faisceaux du cotylédon formaient, à la base de la feuille cotylédonaire, un arc de cercle dont le plan de symétrie peut passer par un faisceau médian ou entre deux groupes de faisceaux semblables en nombre et en disposition.

Cette dernière disposition est la plus fréquente, mais elle n'a pas un caractère de généralité. Il me semble qu'il y a là, après plusieurs autres (1), un argument nouveau à opposer aux idées de certains auteurs (2), qui considèrent la disposition des faisceaux du cotylédon des Monocotylédones en deux masses, situées de part et d'autre d'un plan de symétrie, comme la preuve que les Monocotylédones descendent d'ancêtres dicotylédones dont les cotylédons se seraient soudés.

(1) C.-L. Gatin, *Recherches anatomiques et chimiques*, etc., p. 285 et 286.
(2) Miss Ethel Sargant, *A theory of the origin of the Monocotyledons founded on the structure of their Seedlings* (Annals of Botany, jan. 1903, vol. XVII, p. 1).

Digitized by Google

EXPLICATION DES PLANCHES [1]

PLANCHE I

1. *Canna coccinea* Ait. Coupe longitudinale de l'extrémité radiculaire de l'embryon (grossie 45 fois environ); G, gemmule; C, cylindre central de la radicule; L, racine latérale.
2. *Canna indica* L. Coupe longitudinale dans l'extrémité radiculaire d'un embryon germant (grossie 100 fois environ); C, cylindre central de la radicule; A*p*, assise pilifère de la radicule; E, écorce de la radicule; E*p*, épiderme général de l'embryon; G, gaine radiculaire.

PLANCHE II

1. *Ravenala madagascariensis* Sonnerat. Coupe longitudinale dans l'embryon du *Ravenala madagascariensis* Sonnerat (grossie 120 fois environ); C, cylindre central de la radicule; C*o*, coiffe de la radicule; A*p*, assise pilifère de la radicule; G, gaine radiculaire; E*p*, épiderme général de l'embryon.
2. *Heliconia Bihaï* L. Coupe longitudinale dans l'extrémité radiculaire d'un embryon (grossie 140 fois environ); G, gemmule; C, cylindre central de la radicule; M, région en voie de cloisonnement où se différencient l'écorce et la coiffe de la radicule; E*p*, épiderme général de l'embryon.

(1) Ces planches ont été exécutées avec l'aide de M. Lemaire, chef d'atelier au laboratoire de botanique de la Sorbonne.

Digitized by Google

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DES
GRAINS D'ALEURONE
ET PARTICULIÈREMENT DES GLOBOÏDES

Par J. BEAUVERIE

La mise en évidence des propriétés métachromatiques des globoïdes des grains d'aleurone, signalées par A. Meyer (1), et qui nous a longuement arrêtés, M. Guilliermond et nous-même, nous a fourni une méthode permettant de retrouver ces corps très facilement et, par suite, de suivre plus complètement que cela n'avait pu être fait, leur évolution pendant la maturation de la graine et, plus tard, pendant la germination.

On sait qu'un globoïde est constitué par une substance organique azotée, dont la composition chimique n'est pas exactement connue, à laquelle sont superposées des substances minérales : chaux, magnésie et autres (Posternak) (1), à l'état de sels organiques. La propriété métachromatique du globoïde est bien due à la substance organique azotée, comme on le constate en opérant les réactions colorantes après élimination des sels minéraux ; ceux-ci ne sauraient donner aucune coloration. Nous nous sommes demandé si cette substance, qui présente une métachromásie identique à celle de la volutine (de Meyer) des corpuscules métachromatiques des Protistes, Champignons, Algues, Trypanosomes, et qui existe dans la cellule sous une forme semblable de globules, et avec des propriétés physiques analogues, ne serait pas une substance voisine.

Nous avions deux méthodes pour essayer de résoudre ce problème : 1° Comparer les compositions chimiques des deux

Digitized by Google

substances. Nous n'avons pu le faire, ces compositions restant non connues; 2° créer des termes de comparaison et les multiplier. C'est cette dernière méthode que nous avons suivie; nous exposerons plus loin l'application que nous en avons faite, ainsi que les résultats qu'elle nous a donnés, mais nous croyons devoir attirer, dès maintenant, l'attention sur l'intérêt de cette comparaison. On a signalé depuis quelques années, chez les Protistes, chez les végétaux inférieurs, chez les plantes supérieures (graines, étamines, tubercules, etc.), dans les tissus des animaux élevés en organisation (*Mastzellen*), des corps dont la plupart étaient inconnus ou méconnus. Leur extension et leur abondance signalent déjà leur importance, l'intérêt de leur étude et l'utilité qu'il y aurait à savoir s'ils appartiennent à une même catégorie de corps ou s'ils sont notoirement différents.

Nous allons, dans le présent travail, résumer l'ensemble de nos recherches sur le sujet en question, en réunissant les diverses données que nous avons antérieurement publiées dans des notes éparses. Notre but est : 1° de montrer que la métachromasie fournit à la technique une ressource précieuse pour l'étude des globoïdes des graines et d'utiliser cette méthode pour apporter une contribution nouvelle à l'étude de l'évolution de ces corps pendant la maturation de la graine et au cours de leur germination; 2° de comparer la substance organique azotée des globoïdes avec la volutine ou substance des corpuscules métachromatiques des êtres inférieurs. Pour cela, la métachromasie ne nous servira que de moyen d'exploration permettant de retrouver lesdits corps, la comparaison sera établie sur le plus grand nombre possible de faits.

Auparavant, rappelons en quelques mots en quoi consistent les corpuscules métachromatiques des Protistes.

Les corpuscules métachromatiques ou grains de volutine.

On désigne ainsi des grains de sécrétion possédant une vive affinité pour les colorants, et notamment pour les matières colorantes d'aniline basiques allant du bleu au violet, avec lesquelles ils donnent une coloration d'un rouge plus ou moins

Digitized by Google

intense, mais souvent très caractérisé. Cette propriété leur a valu le nom de « corpuscules métachromatiques » ou encore celui de « grains rouges ». A. Meyer (de Marburg) les a particulièrement décrits, il a caractérisé leur substance à l'aide de nombreuses réactions microchimiques, et il lui a donné le nom de *volutine* (nom qui tire son origine du *Spirillum volutans*, chez lequel il l'a spécialement étudiée). La composition chimique de la volutine reste cependant toujours fort obscure et la question du rôle de ces corps n'a pas encore reçu sa solution définitive; néanmoins, comme nous le verrons par la suite, l'hypothèse de substances de réserve paraît de beaucoup la plus vraisemblable.

Nous n'avons pas à nous étendre ici sur l'histoire de ces corps sur lesquels on trouvera des renseignements, surtout dans Guilliermond (1) et A. Meyer (1), mais il importe que nous rappelions leur extension parmi les êtres vivants. Des granules métachromatiques se présentent avec un ensemble de propriétés communes, telles que nous les établirons plus loin, chez les plantes inférieures : Bactéries, Champignons, Algues, mais aussi chez les plantes supérieures, notamment dans les organes reproducteurs : Anthères (Giroflée, Campanule, etc.), dans la graine avec aleurone où ils constituent la substance organique azotée du globoïde servant de support aux sels minéraux, c'est du moins ce que nous essaierons de démontrer dans ce travail ; dans les graines sans aleurone (Marronnier d'Inde), dans l'ovule (ex. : Tulipe), peut-être aussi dans certains tubercules (dont nous avons, il est vrai, peu poussé l'étude).

Hâtons-nous de dire que rares sont encore les recherches faites dans cette voie, et nous croyons qu'une exploration attentive des groupes végétaux à ce point de vue fera ressortir mieux encore l'extension et, par suite, l'importance de ces formations.

Chez les animaux ils sont communs, non seulement chez les Protistes, mais encore dans les *Mastzellen* des animaux plus élevés en organisation (Guilliermond et Mawas, 7).

Digitized by Google

Technique.

Colorations vitales. — On sait les critiques formulées, à juste titre, sur les méthodes histologiques : les opérations, souvent multiples, auxquelles sont soumises les coupes avant d'être observées, risquent de faire perdre aux éléments de la cellule leur véritable aspect, leur structure réelle, en ne montrant que le produit de leur coagulation, laquelle doit s'effectuer de façons très variées suivant les fixateurs ou les réactifs. En somme, l'aspect de la cellule tuée par un fixateur indique une structure relative à ce fixateur, mais, sans doute, généralement différente de celle qui existe dans la cellule vivante.

Pour obvier à ces inconvénients, dans la plus large mesure possible, il faut, autant que le permettent les circonstances, faire des observations sans fixation préalable, autrement dit « sur le vivant ».

Nous avons essayé comme colorants vitaux le bleu de méthylène et surtout le rouge neutre, bien préférable au précédent dont il est douteux que l'action n'entraîne pas la mort des éléments de la cellule en même temps que leur coloration. Dans les graines, cette observation est rendue difficile, dans bien des cas, par suite de l'abondance des gouttelettes d'huile qui masquent les granulations colorables; on arrive néanmoins à des résultats sur des coupes minces, faites à la main, immergées dans une gouttelette de rouge neutre et ensuite dissociées par écrasement sous la lamelle. Des cellules se vident ainsi partiellement de leur contenu et les parties subsistantes sont, par suite, plus faciles à observer; d'autre part des grains d'aleurone s'échappent des cellules et, en s'isolant, se prêtent plus aisément à l'observation.

Colorations après fixation. — Comme nous venons de le rappeler, la fixation amène généralement une perturbation plus ou moins marquée dans la structure et les résultats sont empreints d'une relativité dont il faut tenir compte. Telle description de structure et de coloration, doit toujours être précédée de l'indication du fixateur employé. C'est en variant le

Digitized by Google

plus possible les fixateurs que l'on peut espérer arriver à reconnaître ce qui revient en propre à l'action de chacun d'eux dans les faits observés.

Les fixateurs que nous avons essayés sont surtout : l'alcool absolu, l'alcool à 90°, le Lenhossek (eau, sublimé, alcool, acide acétique), le Zenker (eau, bichromate de potasse, sublimé), le liquide de Bouin (picroformol), le Mann (eau, sublimé et acide picrique), le Ladowsky (eau, alcool, formol, acide acétique), le Flemming, le formol.

Nous avons constaté bientôt que les fixateurs à base d'acide acétique doivent être éliminés, car cet acide dissout plus ou moins complètement, et fait disparaître les globoïdes (Ladowsky, Lenhossek, picroformol, Flemming, etc.).

Nous avons retenu particulièrement : l'alcool, d'un emploi facile et qui permet de réaliser de belles colorations métachromatiques, il a cependant le grave défaut de contracter considérablement le protoplasma; le Lenhossek, qui ne donne qu'une inappréciable contraction, notons que malgré l'existence d'acide acétique ce fixateur peut être utilisé, son emploi n'entraînant pas la disparition des globoïdes, peut-être à cause de l'action rapide du sublimé qui entraîne leur coagulation instantanée avant que l'acide ait pu agir ; enfin, le formol que nous sommes arrivé à utiliser de préférence, à cause de la commodité de son emploi et du minimum de déformation qu'il semble réaliser.

Colorants. — Nous avons eu à réaliser surtout la coloration métachromatique qui est la propriété des corps que nous étudions ici, tombant tout d'abord et le plus facilement sous les sens.

On sait en quoi elle consiste : les colorants basiques d'aniline, allant du bleu au violet, donnent lieu, avec la substance de certains corps, à un changement de couleur ; ils prennent, en effet, sous leur action, une nuance qui est généralement rouge. En somme, ces corps jouissent d'une propriété chromotrope. La nuance rouge obtenue est plus ou moins marquée, mais elle est en général très caractérisée et souvent d'un rouge vineux ; elle est, par exemple, faible avec le bleu de méthylène, très accentuée avec le bleu polychrome de Unna.

Digitized by Google

On sait qu'il existe d'autres cas de métachromasie que celui que nous signalons ici, le plus anciennement connu est celui de l'iode dont la coloration normale, telle qu'elle se révèle lorsque la solution de ce corps agit sur le noyau et le protoplasma, est jaune et qui donne une nuance bleue avec l'amidon, brune avec le glycogène.

La métachromasie rouge est elle-même insuffisante à caractériser une substance, car nous savons déjà qu'elle se produit pour des corps très divers, tels que (d'après les histologistes se livrant à l'étude des tissus des animaux) : les mucilages, les cartilages, l'amyloïde, nous pourrions ajouter les granulations des *mastzellen*, mais, d'après Guilliermond et Mawas (7), elles doivent être rapprochées des corpuscules métachromatiques des Protistes.

Il est nécessairement impliqué, dans la conception de la métachromasie, que la matière colorante est un individu chimique et non une superposition de deux substances, par exemple, dont une seule subsisterait après les lavages; c'est ainsi que le phénomène par lequel l'amyloïde se colore en rouge par le vert d'iode, ne peut avoir la valeur d'une véritable métachromasie, parce qu'il repose sur une addition de méthyl-violet.

Quelle est l'explication du changement de couleur survenant dans le cas que nous étudions? La théorie de cette transformation ne semble pas encore bien fixée : pour les uns il se produit là un simple phénomène physique, pour d'autres il s'agit de formations tautomères, c'est-à-dire que, si nous considérons, par exemple, de la thionine en solution et de la thionine colorant du mucilage, l'une étant bleue, l'autre étant rouge, nous aurons deux corps ayant chimiquement la même formule totale, mais dont les formules de constitution peuvent manifester de légères différences, encore que les deux formes puissent facilement se confondre l'une dans l'autre. Il y aurait donc deux modifications tautomères de la thionine, l'une bleue et l'autre rouge; dans une solution aqueuse, la bleue existe presque seule, dans un milieu de mucilage la rouge prédomine. Dans une solution alcoolique, la thionine est encore plus purement bleue que dans une solution aqueuse, probablement parce que, dans ce cas, la modification rouge n'est pas susceptible d'exister.

Digitized by Google

Les colorants que nous avons le plus souvent employés sont : le bleu polychrome de Unna, qui nous a donné les meilleurs résultats. Les coupes doivent être débarrassées de l'huile par un séjour de quelques minutes dans l'alcool, on peut les laisser ensuite une dizaine de minutes, ou beaucoup plus, dans le bain colorant, après quoi il faut décolorer dans une solution de *glycerinäthermischung* (Grübler) étendue à 10 volumes d'eau environ ; la décoloration sera plus ou moins longue, suivant que l'action du colorant aura été plus ou moins prolongée. Les colorations se conservent bien dans les préparations montées au baume ; le bleu de crésyl BB, le *Brillantcresylblau*, le Giemsa, se signalent encore par leur belle réaction métachromatique et possèdent sur le premier procédé l'avantage de ne pas exiger une décoloration toujours délicate à mesurer. Signalons encore : la thionine, le bleu de toluidine, le bleu Borrel, le violet de gentiane, le violet de méthyle, le violet de crésyl BB.

Avec ces divers colorants, on observe souvent une métachromasie des nucléoles, mais elle n'est pas identique à celle des corpuscules métachromatiques. Rien au cours de nos observations n'a pu nous porter à faire nôtre la théorie de quelques auteurs qui pensent que ces nucléoles seraient l'origine, par multiplication, et ensuite par migration dans le cytoplasma, des corpuscules métachromatiques que l'on rencontre dans celui-ci.

Nous répéterons, en achevant ce paragraphe, que la métachromasie seule est insuffisante à caractériser une inclusion cellulaire, mais c'est une propriété notable et, de plus, une base précieuse d'exploration de la cellule à la recherche de certains corps que l'on achèvera ensuite de caractériser à l'aide d'autres réactions. Nous indiquerons, plus loin, diverses réactions concernant les corpuscules métachromatiques et les globoïdes.

ÉTUDE DE L'ALEURONE ET PARTICULIÈREMENT DU GLOBOÏDE.

I. *Graine non germée.* — Si l'on colore au bleu Unna des coupes de *Ricinus communis* fixées à l'alcool, ou mieux au formol, on obtient une coloration rouge vineux des globoïdes (Pl. III, fig. 1, 2). Ceux-ci se présentent avec des caractères physiques analogues à ceux des corpuscules métachromatiques. Ils

Digitized by Google

sont disposés autour du cristalloïde de protéine qui, généralement, ne se colore pas ou prend un ton bleu pâle ; ils offrent l'aspect de globules de dimensions variables, les uns relativement très gros, les autres très petits ; il n'existe souvent qu'un seul gros globoïde par grain d'aleurone. La partie périphérique du globoïde est généralement plus fortement colorable que la partie centrale, comme cela s'observe dans les corpuscules métachromatiques. Outre cette zone externe, on remarque parfois, au centre, un granule très colorable ; il arrive même que les globoïdes paraissent constitués de plusieurs zones concentriques fortement colorables alternant avec des zones pâles, comme s'ils étaient formés de couches alternativement plus et moins condensées, ou, encore, solides et molles. On retrouve ces structures, mieux caractérisées encore, aux stades de germinations (Pl. III, fig. 5, Pl. IV, fig. 6). Nous nous étendrons un peu, en étudiant ceux-ci, sur les hypothèses que l'on peut émettre pour expliquer cette structure.

Nous constatons dans la Courge une constitution semblable.

Dans le Lupin blanc, où il n'existe pas de cristalloïde mais seulement de la substance amorphe, les globoïdes sont fort difficiles à percevoir avec les procédés ordinaires et plusieurs auteurs les ont méconnus. Par la méthode de la métachromasie on les distingue parfaitement sous forme de granules ou de bâtonnets épars en grand nombre dans la masse amorphe, mais abondants surtout vers son centre (Pl. IV, fig. 1). On les voit avec une facilité beaucoup plus grande en traitant préalablement la coupe par une solution de potasse à 1 p. 100 qui dissout la substance amorphe laissant subsister seulement le réseau protoplasmique et les granules que la métachromasie rend très apparents.

Notons que les globoïdes de Lupin ne donnent pas de cristaux avec la liqueur de Pfeffer (1) destinés à déceler la magnésie.

La coupe de l'albumen de la graine de *Vitis vinifera*, colorée par le Bleu Unna, donne lieu à d'intéressantes observations. On aperçoit d'abord des cellules de coloration rouge, disséminées dans le tissu, soit isolées, soit par groupes, le reste du tissu

(1) Solution, dans 100 grammes d'eau, de : 10 grammes d'ammoniaque, 10 grammes de phosphate de soude et 10 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque.

Digitized by Google

n'étant pas coloré. Les premières cellules doivent leur coloration à de très nombreux corpuscules rouges uniformément répartis dans la cellule et à des corps beaucoup plus volumineux, également rouges, mais en petit nombre.

Le contour de ces corpuscules est arrondi ou mamelonné, ils offrent fréquemment la structure à stries concentriques que nous avons eu déjà l'occasion de signaler chez le Ricin et la Courge. Ces corps répondent aux globoïdes proprement dits.

Dans les cellules incolores on trouve un cristalloïde dans lequel est inclus un gros cristal d'oxalate de chaux en oursin. Il semble que la présence du cristal exclut celle de la substance métachromatique. Souvent aussi les globoïdes sont juxtaposés aux cristalloïdes, mais alors il n'existe pas de cristal.

Cette description n'est pas conforme à celle de Pfeffer, reproduite par les auteurs classiques, qui montre le cristal inclus dans « un gros globoïde ». Nous pensons que les auteurs ont confondu globoïde et cristalloïde, erreur facile à éviter par la méthode de la métachromasie. Nous trouvons de même, dans la graine de noisetier, d'une part des cellules à substance métachromatique plus ou moins finement granuleuse, quelquefois en boule, ces cellules paraissent rouges et, d'autre part des cellules, non colorables métachromatiquement, à cristaux d'oxalate de chaux inclus dans les cristalloïdes.

Dans le *Bertholletia* les globoïdes sont : soit petits et sphériques, soit volumineux et mamelonnés. Il existe alors une masse centrale, très fortement colorée en rouge foncé, à contour mamelonné et plus ou moins parallèle au contour extérieur. La zone comprise entre ces deux contours est rose pâle. Cette structure est, en somme, analogue à celle des grains précédents.

Coloration vitale par le rouge neutre. — Nous avons essayé, sur des coupes de graines de Lupin déjà un peu gonflées par l'eau, l'action des colorants vitaux tels que le rouge neutre. Nous avons constaté que le grain d'aleurone se colore en rose tandis que dans sa masse se trouvent disséminés des granules plus fortement colorés. Ils représentent des reliquats de protéine, non encore dissoute, subsistant dans la masse déjà fondue et de coloration plus pâle.

Les globoïdes sont d'autres corps que ces granules colorés,

Digitized by Google

car ceux-ci se dissolvent dans la potasse à 5 p. 100, ce qui n'aurait pas lieu dans le cas où ils représenteraient des globoïdes. Ces derniers sont trop ténus pour être visibles par ce procédé qui ne permet pas leur coloration élective. Ces grains d'aleurone de Lupin sont, en somme, d'une structure très comparable à celle que Guilliermond a décrite en détail chez les Graminées (6) avec cette différence, toutefois, que, chez celles-ci, les globoïdes, sont assez volumineux pour être aperçus quoique non colorés.

Dans la Courge et le Ricin la coloration vitale par le rouge neutre est rendue particulièrement difficile à cause de l'huile; il est nécessaire d'écraser la préparation pour mieux séparer les grains d'aleurone. On constate alors que les globoïdes restent colorines tandis que la substance amorphe et le cristalloïde se colorent. Le violet de gentiane donne les mêmes résultats.

Formation des grains d'aleurone pendant la maturation de la graine, particulièrement au point de vue de la formation des globoïdes.

Des granules métachromatiques apparaissent de très bonne heure pendant le développement de la graine, soit bien avant la lignification des téguments, dans le Ricin ou la Courge, et alors qu'il n'existe pas encore de cristalloïdes, ni de « substance amorphe ». Dans la graine en voie de développement les granules métachromatiques apparaissent non seulement dans le nucelle, où ils sont fort rares, dans les jeunes cellules de l'albumen, où ils sont particulièrement abondants au niveau des épidermes de ces tissus, mais encore dans les téguments où ils existent également à l'état fréquent dans les cellules épidermiques.

Étant donnée la destinée de ces tissus, on voit qu'un certain nombre de ces corpuscules sont des formations transitoires.

On les aperçoit, le plus souvent, à l'état de granulations très petites, ou plus ou moins volumineuses, dans l'intérieur des vacuoles dont le cytoplasma est creusé à ces stades ; ce n'est qu'ultérieurement, et à une époque assez rapprochée de la maturité, que « cristallise » la substance protéique sous forme de cristalloïde. On trouve, en outre, dans les téguments, de nom-

Digitized by Google

breux petits corps de formation transitoire, rougissant par l'iode, qui représentent de l'amylodextrine.

L'aspect cytologique des tissus dans la graine jeune rappelle celui qu'ils prendront aux stades avancés de la germination. Nous montrerons plus loin que ce sont, en effet, les granules métachromatiques qui subsistent les derniers parmi les éléments du grain d'aleurone lorsque ceux-ci se dissolvent pendant la germination. Il arrive un moment où ce sont les seuls corps figurés qui occupent encore les vacuoles du protoplasma devenu spongieux. Ce sont également eux, comme nous venons de le décrire, qui apparaissent les premiers dans les vacuoles du cytoplasma de la graine en voie de formation.

La technique que nous rappelons ici permet de modifier l'exposé que fait Wakker de la formation des grains d'aleurone, dans son mémoire classique.

Suivant cet auteur, on voit apparaître d'abord le cristalloïde au sein de la vacuole, ce serait aussi ce corps qui subsisterait le dernier dans les vacuoles, au cours de la germination ; ceci pour le Ricin, par exemple. Dans la figure qu'il donne on voit, en effet, des cristalloïdes occupant les vacuoles à l'exclusion des globoïdes, seulement il faut remarquer que les préparations décrites ont été fixées par une solution formée d'un mélange des acides osmique, picrique et acétique, qui, à cause de ce dernier, fait disparaître les globoïdes. Dans d'autres cas, avec l'*Helianthus* par exemple, Wakker ne fait pas intervenir le fixateur précédent, aussi l'élément qu'il représente dans les vacuoles, et qui est encore seul à les occuper au stade jeune qu'il étudie, est-il bien un globoïde avec tous ses caractères de forme et de structure, mais, trompé sans doute par les résultats obtenus en faisant agir le Flemming, il les interprète comme étant des débuts de formation de cristalloïde.

L'ordre de formation des enclaves dans la vacuole albuminigène est d'une importance certaine pour l'étude de la cristallisation et de la concrétion des matières albuminoïdes, dont les grains d'aleurone constituent de si intéressants matériaux.

En somme, l'apparition des globoïdes, sous forme de granules métachromatiques, précède celle des cristalloïdes

Digitized by Google

et de la substance amorphe dans les vacuoles cytoplasmiques, contrairement à l'opinion de Wakker pour qui le cristalloïde se forme d'abord. Des granulations, possédant les propriétés des globoïdes, se manifestent de bonne heure, non seulement dans le nucelle et l'albumen, mais aussi dans les téguments, là où ne se formeront pas de grains d'aleurone. Contrairement à l'opinion admise, la substance du globoïde peut donc avoir, dans la graine, une vie distincte du grain d'aleurone ; elle peut exister en dehors de lui, et ne constitue pas nécessairement une enclave de ces grains. Il peut y avoir des grains d'aleurone sans globoïde, le haricot, par exemple et des granulations, équivalentes aux globoïdes par leurs propriétés, sans grains d'aleurone proprement dits.

ÉVOLUTION DU GRAIN D'ALEURONE, ET PARTICULIÈREMENT DU GLOBOÏDE, DANS LA GRAINE EN VOIE DE GERMINATION.

A. — GLOBOÏDES.

Nous décrirons ce qui se passe au cours de la germination successivement dans le Ricin, la Courge et le Lupin.

1° *Ricin*. — Dès les premiers jours, les globoïdes se gonflent et se fragmentent (Pl. III, fig. 4, 5, 10 ; Pl. IV, fig. 6, 5). Ils se disposent autour du cristalloïde tandis que ce dernier se sectionne et se dissout peu à peu (Pl. III, fig. 4, 5 ; Pl. IV, fig. 6). Pendant qu'au sein de la substance amorphe le cristalloïde est en voie de dissolution, la quantité de la substance des globoïdes paraît s'accroître (Pl. III, fig. 4 ; Pl. IV, fig. 5). Ce fait résulte d'un gonflement considérable. On constate fréquemment, en outre, l'apparition de fines granulations métachromatiques dans le cytoplasma. Au bout de trois jours environ, le cristalloïde, ou les fragments qui proviennent de sa division, sont très réduits et comme en train de fondre dans la masse amorphe, tandis que les grains rouges sont toujours abondants. Vers le quatrième jour la protéine du cristalloïde imprègne la masse amorphe, dont l'aspect est grossièrement granuleux et que ponctuent encore des corpuscules métachromatiques. Enfin, vers le cinquième jour, les grains d'aleurone ont perdu toute individualité, çà et là s'observent quelques restes de cristalloïde

Digitized by Google

et de gros granules métachromatiques provenant de la fusion de ceux qui existaient aux stades précédents (Pl. III, fig. 6, 7). A ces stades, les sels minéraux, comme nous l'avons constaté pour la magnésie, subsistent encore, et la magnésie donne de beaux cristaux avec la solution ammoniacale d'oxalate d'ammoniaque et phosphate de soude. Le protoplasma prend l'aspect vacuolaire. Vers le huitième jour le protoplasma est devenu uniformément vacuolaire et l'on trouve encore, dans quelques vacuoles, de rares grains rouges (Pl. III, fig. 8).

2° *Courge.* — Dans la Courge, la marche générale des transformations des réserves est moins rapide. Vers le quatrième ou cinquième jour la protéine, au lieu de disparaître, s'agglomère en masses aux formes les plus bizarres (Pl. IV, fig. 8 à 12) ; quant aux granules métachromatiques, ils sont très abondants et, particulièrement dans les cellules périphériques des cotylédons, ils se fusionnent en énormes sphères, peu nombreuses, occupant les larges vacuoles dont le protoplasma est creusé (Pl. III, fig. 13). Ces corpuscules sont le plus volumineux dans les assises sous-épidermiques ; ils présentent, avec une netteté particulière, la structure à zones concentriques que nous avons décrite plus haut. Dans les assises plus profondes ils sont encore nombreux mais beaucoup moins volumineux ; enfin, du côté de l'épiderme interne, ils ont plus ou moins totalement disparu. Dans les cellules de l'épiderme externe (inférieur de la feuille cotylédonaire) ils sont à l'état de granules très ténus, disséminés dans le cytoplasma dense.

On retrouve encore de gros grains rouges dans les germinations de dix à vingt jours, comportant des hypocotyles de 2 à 4 centimètres et des cotylédons commençant à verdir. Les plus gros se trouvent dans des vacuoles ; il en existe, en outre, à l'état finement pulvérulent, dans la trame cytoplasmique. On observe parfois aussi, à ces stades, des agglomérations de ces sphères de tailles différentes et l'on a ainsi des masses rouges volumineuses dont l'aspect est, pour ainsi dire, levuriforme et comme bourgeonnant ; elles se trouvent dans la large vacuole qui a refoulé à ce moment le protoplasma contre la paroi de la cellule (Pl. III, fig. 11). Sans affecter cette forme spéciale, la substance métachromatique

Digitized by Google

peut prendre, à ces stades, les formes les plus irrégulières de corps allongés et étranglés ou à contour irrégulièrement ondulé.

Dans les germinations de vingt-deux ou vingt-trois jours, ces corps sont devenus très rares et leur taille est minime, et c'est seulement à partir de ce moment, l'hypocotyle ayant plus de 4 centimètres de longueur, que l'on n'en trouve à peu près plus de traces dans les cotylédons dont le protoplasma a pris une structure homogène.

3° *Lupin.* — L'aleurone du Lupin blanc était considéré, par certains auteurs, comme dépourvu d'inclusions ; nous y avons décrit des granules métachromatiques que l'on met particulièrement bien en évidence en traitant la préparation par la potasse avant de la colorer.

Dès les premiers stades de la germination les grains d'aleurone, de polyédriques qu'ils étaient, deviennent sphériques (Pl. IV, fig. 3), les granules rouges se répartissent bientôt uniformément dans la cellule. Après vingt-quatre heures, l'aleurone a perdu son individualité, le contenu cellulaire est à peu près homogène et seulement parsemé de granules métachromatiques plus volumineux, mais moins nombreux qu'aux stades antérieurs (Pl. IV, fig. 4). Il faut noter que le temps nécessaire aux transformations est très variable et relatif à la manière dont s'est effectuée la pénétration de l'eau dans la graine (Voy. Godfrin (1). Ces corpuscules sont généralement logés dans de petites vacuoles.

Protoplasma et granules intercellulaires. — Signalons ce fait que l'on voit fréquemment dans le Ricin, le Lupin ou la Courge, de très nombreux corpuscules intercellulaires ; ils peuvent être très ténus ou volumineux lorsque leur abondance a entraîné leur fusionnement. On peut observer parfois, surtout au niveau des assises périphériques, des bandes rouges continues de substance métachromatique qui marquent le contour des cellules (Pl. III, fig. 10).

Cette observation cadre bien avec celle de Kny, qui a signalé et étudié le protoplasma intercellulaire de la graine de Lupin.

Digitized by Google

Les cristalloïdes.

La protéine des cristalloïdes des grains d'aleurone présente, dans certains cas, au cours de la germination une évolution spéciale qu'il est bon de signaler. Le bleu de méthylène, le bleu Borrel, et surtout le bleu polychrome, après décoloration au Glycerinäthermischung, donnent à la protéine une teinte bleue plus ou moins prononcée, qui permet d'en suivre facilement l'évolution. Si la fixation a été opérée au Lenhossek la coloration est d'un bleu un peu verdâtre. Ajoutons que ces cristalloïdes se colorent également par l'éosine, la safranine, etc.; ils sont donc amphophiles, tandis que les corpuscules métachromatiques sont basophiles.

Dans le Ricin, les phénomènes qui se produisent au cours de la germination sont connus : dès le début les cristalloïdes se fragmentent ; vers le troisième jour, les fragments diminuent et semblent fondre dans la masse amorphe qui devient grossièrement granuleuse (Pl. III, fig. 5). Les granules métachromatiques sont toujours très abondants et subsistent alors que les cristalloïdes ont perdu l'état d'éléments figurés.

Dans la Courge, les phénomènes sont différents. Déjà vers le quatrième ou cinquième jour, les cristalloïdes, surtout dans les cellules basilaires et périphériques des cotylédons, ont perdu leur forme; ils ont pris des contours arrondis et sont comme boursouflés, puis ils se fusionnent entre eux, formant de grosses masses àn contours lobés, à aspect levuriforme et quelquefois coralloïde (Pl. IV, fig. 8 à 12); elles deviennent plus compactes et arrivent à être énormes par rapport à la cellule ; elles présentent fréquemment des trous à leur surface qui peuvent provenir soit de la fusion incomplète des masses arrondies primitivement isolées, soit de la digestion s'opérant à ces stades de germination (Pl. IV, fig. 8, 9 et 12). Plus tard les corps protéiques perdent toute homogénéité, ils deviennent granuleux et le contenu cellulaire prend tout entier cet aspect. Enfin, après disparition de toute trace de protéine en tant qu'élément figuré, le cytoplasma devient homogène et vacuolaire. La protéine disparaît bien avant la substance métachromatique des corpuscules.

Digitized by Google

Le noyau.

Le noyau des cellules de l'albumen ou des cotylédons des graines de Ricin ou de Courge présente, à l'état de vie ralentie, une forme étoilée et offre de fines granulations de chromatine, irrégulièrement réparties dans sa masse, ainsi qu'un nucléole (Pl. III, fig. 1, 2, 3). Pendant la germination et surtout durant la période la plus active de la digestion des réserves, le noyau et le nucléole se gonflent beaucoup, triplant souvent de diamètre. Le noyau prend alors une forme vésiculaire (Pl. III, fig. 6, 4, 5, 13).

Lorsque la germination est avancée (Pl. IV, fig. 5, 6) et les réserves digérées, les noyaux des cellules des cotylédons de la Courge (Pl. III, fig. 13) ou de l'albumen du Ricin perdent la netteté de leur contour, en même temps que leur forme globuleuse; ils présentent finalement un aspect amœboïde avec contour se confondant plus ou moins avec les trabécules du cytoplasma. La membrane perd toute netteté dans cette forme que l'on peut considérer comme représentant un stade de dégénérescence; son aspect rappelle cependant celui qu'il présentait pendant la période de repos de la graine.

Notons que les nucléoles offrent parfois avec la thionine, le bleu Borrel, etc., une métachromasie assez faible, et différente de celle des globoïdes et granules métachromatiques. Rien dans les faits que nous avons observés ne nous permet de conclure à des relations existant entre les nucléoles et les granulations colorables du cytoplasma.

Chez le Lupin, les phénomènes nucléaires sont analogues et le noyau présente les mêmes caractères, mais il convient, pour l'observer facilement, de soumettre au préalable la préparation à l'action de la potasse à 5 p. 100.

Caractères histo-chimiques de la substance organique azotée des globoïdes. Comparaison avec la volutine des corpuscules métachromatiques des Protistes.

La matière organique azotée, déjà signalée par Pfeffer et Posternak, qui sert de substratum aux substances minérales

Digitized by Google

des globoïdes et dont nous avons mentionné plus haut certaines propriétés qu'elle possède en commun avec la volutine, peut-elle être considérée comme voisine de celle-ci, ou bien n'a-t-elle avec elle que des rapports superficiels ? Pour élucider cette question, nous allons comparer les caractères histo-chimiques des globoïdes et de la volutine, en multipliant autant que possible les points de comparaison.

A. *Caractères histo-chimiques des globoïdes de l'aleurone.* — Nous avons établi les caractères suivants, en collaboration avec M. Guilliermond :

a. *Colorations vitales.* — Les globoïdes ne se colorent pas sur le frais, ni par le rouge neutre, ni par le bleu de méthylène. Au contraire, Guilliermond a montré que les corpuscules métachromatiques fixent énergiquement ces deux colorants dans les cellules vivantes.

b. *Colorations après fixation.* — Les globoïdes se colorent électivement et d'une manière métachromatique, avec la plupart des couleurs basiques d'aniline bleues ou violettes (bleu de méthylène, bleu polychrome de Unna, brillant Kresylblau, bleu de crésyl B B, bleu de toluidine, thionine, violet de gentiane, violet de méthyle, violet de crésyl BB), comme la volutine.

Ils fixent également, comme cette dernière : la safranine, le vert de méthyle, l'hématoxyline cuprique, la fuchsine phéniquée de Ziehl et le rouge de ruthénium ; ils se colorent enfin par l'hématoxyline de Delafield, mais d'une façon un peu différente de la volutine. Par contre, ils ne se colorent ni par l'hématéine, ni par l'hématoxyline ferrique, qui teignent la volutine.

c. *Réactions fondamentales de A. Meyer. — Réaction I.* — (*Fixation au formol, coloration au bleu de méthylène, décoloration dans une solution aqueuse à 1 p. 100 d'acide sulfurique.*) La volutine, teinte par le bleu de méthylène, reste seule colorée ; tous les autres éléments de la cellule se décolorent, sauf parfois cependant les nucléoles qui restent colorés quelque temps. Le traitement par une solution d'acide sulfurique à 5 p. 100 suffit, en tout cas, à décolorer immédiatement tous les éléments de la cellule. Meyer considère cette réaction comme essentiellement caractéristique de la volutine, car il a remarqué que tous les

Digitized by Google

éléments figurés de la cellule, autres que la volutine (pyrénoïdes, amidon, graisses, leucites, noyaux, divers grains de sécrétion), se décoloraient presque immédiatement par cette méthode.

Sur des coupes de graines de Ricin fixées au formol, colorées au bleu méthylène et traitées par une solution à 1 p. 100 d'acide sulfurique, on observe une dissolution immédiate des sels minéraux des globoïdes qui laissent subsister à leur place des vacuoles dans lesquelles on distingue une partie insoluble, sous forme de granules restant colorés par le bleu de méthylène et correspondant vraisemblablement à la substance qui déterminait la coloration des globoïdes. Tout le reste de la cellule se décolore assez rapidement (Pl. IV, fig. 7). Cette réaction avait été déjà essayée par Meyer sur les globoïdes et l'avait amené à penser que ces corps renfermaient une substance voisine de la volutine.

Réaction II. — (*Traitement de préparations colorées au bleu de méthylène par l'iodo-iodure de potassium, puis par une solution aqueuse à 5 p. 100 de carbonate de sodium.*) — La volutine colorée par le bleu de méthylène prend, après le traitement par l'iodo-iodure de potassium, une couleur noir foncé, tandis que le reste de la cellule devient jaune. Une goutte de solution à 5 p. 100 de carbonate de sodium décolore lentement la volutine.

La réaction donne le même résultat pour les globoïdes.

Réaction III. — (*Fixation au formol, coloration au Ziehl, décoloration par une solution aqueuse à 1 p. 100 d'acide sulfurique.*) La volutine se colore intensivement par le Ziehl; après traitement par la solution d'acide sulfurique, elle reste seule colorée, tandis que tous les autres éléments de la cellule se décolorent. Les mêmes résultats sont obtenus par les globoïdes, toutefois les cristalloïdes de protéine ne se décolorent que très lentement.

Réaction IV. — (*Eau bouillante.*) — La volutine se dissout en cinq à dix minutes dans l'eau bouillante. Des coupes de Ricin faites à la main, traitées pendant dix minutes par l'eau bouillante, débarrassées de leur graisse par l'alcool absolu, puis colorées au bleu Unna, montrent toujours leurs globoïdes teints en rouge vineux. La substance colorable des globoïdes est donc insoluble dans l'eau bouillante.

Réaction V. — (*Eau de Javel.*) — L'eau de Javel dissout

Digitized by Google

la volutine en quelques minutes ; des coupes de graines de Ricin, fixées à l'alcool, traitées par l'eau de Javel, puis teintes par le bleu de méthylène, nous ont montré les globoïdes nettement colorés. La substance colorable de ces corps se comporte différemment de la volutine avec l'eau de Javel, toutefois Meyer a insisté sur la difficulté de cette réaction et sur la nécessité d'employer de l'eau de Javel fraîchement préparée.

Réaction VI. — (*Hydrate de chloral.*) — La volutine est rendue insoluble après traitement pendant cinq minutes dans l'hydrate de chloral. Des coupes de Ricin fixées par l'alcool, traitées par l'hydrate de chloral, puis colorées par le bleu de méthylène, ont montré des globoïdes nettement colorés.

Réaction VII. — (*Fixation au formol, eau bouillante.*) — La volutine se trouve fixée par le formol et devient insoluble dans l'eau bouillante. On obtient le même résultat pour les globoïdes.

Réaction VIII. — (*Coloration au bleu de méthylène, traitement par une solution aqueuse à 5 p. 100 de carbonate de soude.*) La volutine colorée par le bleu de méthylène se décolore immédiatement par le carbonate de soude. La réaction s'est montrée la même pour les globoïdes.

Les autres réactions de Meyer sont considérées par cet auteur comme moins importantes (1); nous avons essayé la plupart

(1) Suivant l'opinion de M. Guilliermond, beaucoup des réactions de Meyer ne paraissent pas très probantes. La méthode suivie par cet auteur ne semble pas en effet exempte de critique. A. Meyer a procédé de la manière suivante : il étale une bactérie, ou un autre microorganisme, sur une lame de verre et place cette dernière pendant un temps déterminé dans un cristallisoir renfermant le réactif qu'il veut essayer. Ensuite il lave la préparation et la colore au bleu de méthylène. S'il y a coloration des granules, il est évident que la volutine est insoluble dans le réactif; si, au contraire, la coloration ne s'effectue pas, Meyer admet que la volutine s'est dissoute. Cette dernière conclusion est discutable. Nous avons dit, en effet, que différents réactifs chimiques agissaient sur la volutine, non en la dissolvant, mais en supprimant son affinité pour les colorants. Lorsqu'on a affaire à une cellule relativement grosse, où les corpuscules métachromatiques sont nettement visibles sans coloration, on aperçoit alors ces corps incolores dans les vacuoles, ce qui prouve bien qu'ils ne sont pas dissous. Les corpuscules métachromatiques sont excessivement sensibles à l'action de certaines substances dont la présence suffit à annihiler leur pouvoir de coloration. Un exemple de ce phénomène nous est offert par la fixation à l'acide picrique ou au picroformol qui fixe bien les corpuscules métachromatiques, mais dont l'action de l'acide picrique entrave la coloration qui ne peut plus s'effectuer qu'après un lavage prolongé et encore avec certaines teintures seulement.

Digitized by Google

d'entre elles sur les globoïdes et nous donnons ici un tableau résumant les résultats obtenus.

RÉACTIONS DE MEYER (*suite*)	VOLUTINE	GLOBOIDES
Réaction A. — Réactif de Millon.	Dissolution immédiate.	La protéine se colore en rouge, les globoïdes restent incolores et ne semblent pas se dissoudre.
Réaction B. — Sirop de sucre de canne, acide sulfurique concentré.	La volutine ne rougit pas.	Les globoïdes se dissolvent immédiatement.
Réaction C. — Chlorhydrate de vanilline.	La volutine ne se colore pas et se dissout lentement.	Les globoïdes se dissolvent immédiatement.
Réaction D. — Liqueur de Fehling.	Pas de coloration.	Les globoïdes se gonflent et se dissolvent laissant à leur place d'énormes vacuoles.
Réaction E. — Iodo-iodure de potassium.	Coloration jaune.	Coloration jaune des cristalloïdes de protéine. Les globoïdes restent incolores.
Réaction F. — Chloro-iodure de zinc.	Coloration jaune.	Pas de coloration des globoïdes. Les cristalloïdes de protéine se colorent en jaune.
Réaction G. — Alcool absolu, eau bouillante.	L'alcool absolu fixe la volutine et la rend insoluble dans l'eau bouillante.	Les globoïdes sont insolubles.
Réaction H. — Alcool, éther, chloroforme.	La volutine est insoluble.	Les globoïdes sont insolubles.
Réaction I. — Acides.	HCL, SO^4H^2 à 5 p. 100 et AzO^3H à 25 p. 100 dissolvent immédiatement la volutine; SO^4H^2 à 2 p. 100 la dissout en 24 heures.	Les globoïdes se dissolvent immédiatement par les acides, même à très faible concentration.

Au point de vue des colorants, les globoïdes se comportent exactement comme la volutine, sauf qu'ils ne prennent pas le rouge neutre sur le frais et qu'ils ne se colorent ni par l'hématéine, ni par l'hématoxyline après fixation.

Digitized by Google

Au point de vue des réactions micro-chimiques, ils présentent, d'une manière très nette, les réactions I, II, III, VI, VIII, de Meyer, considérées par cet auteur comme essentiellement caractéristiques de la volutine ; par contre, ils diffèrent de la volutine par la manière dont ils se comportent vis-à-vis des réactions IV, V et VII et par quelques autres réactions considérées comme moins importantes.

On peut, peut-être, expliquer ces différences entre les globoïdes et la volutine par le fait de la présence des sels organiques qui, dans les globoïdes, pourraient entraver certaines colorations, notamment la coloration vitale au rouge neutre ; à coup sûr elle entraîne, chez les globoïdes, des propriétés chimiques très différentes de celles de la volutine.

Les acides très dilués paraissent agir en dissolvant les globoïdes, tout en laissant subsister un résidu correspondant à la substance colorable de ces corps.

Il paraît donc résulter de l'ensemble de leurs réactions microchimiques, que les globoïdes renferment, outre les sels organiques que l'on connaît, une substance azotée qui présente de grandes analogies avec la volutine et qui semble voisine de cette dernière.

Pfeffer (1, p. 477) a constaté, après la dissolution des globoïdes sur une coupe traitée par la potasse concentrée, la présence d'un résidu azoté colorable par l'iode et la teinture d'aniline et paraissant de nature protéique. Plus récemment Tschirch et Kritzler (1) ont signalé dans les globoïdes l'existence de globulines et, selon eux, ces globoïdes auraient perdu leurs caractères albuminoïdes par suite de leur combinaison avec le Ca et le Mg. Il est très vraisemblable que certaines des matières azotées observées dans les globoïdes correspondent à la substance colorable que nous considérons comme voisine de la volutine.

Les caractères morphologiques, ainsi que les caractères biologiques : présence, origine, évolution, rapprochent encore les globoïdes des corp. métachromatiques des Protistes. C'est ainsi qu'ils se présentent comme eux sous la forme de corpuscules plus ou moins volumineux, capables de se réunir en masses de taille plus forte ; il est vrai que les globoïdes, chez certaines espèces, se présentent avec un contour mamelonné, mais les cor-

Digitized by Google

puscules métachromatiques offrent parfois aussi un contour irrégulier. Les globoïdes, comme les corp. métachromatiques, présentent généralement un contour plus dense ou, pour ne pas préjuger de la densité, plus fortement colorable, et une région centrale moins colorable; à tel point qu'on a pu se demander si l'on n'avait pas affaire, en réalité, à des sphères creuses.

Comme les corpuscules métachromatiques, les globoïdes se forment en même temps que les réserves typiques : graisse, amidon, dextrine (souvent transitoires), ou un peu avant qu'elles n'aient été accumulées. Leur quantité maximum correspond à la maturation complète (comme dans les asques et les sporanges). Ils sont absorbés au moment de la germination de la graine, comme les corpuscules métachromatiques paraissent consommés au moment de la transformation du sac ascogène ou du sporange encore homogène, en masse de spores. Notons, en outre, que ces divers faits militent en faveur du rôle de substance de réserve à attribuer aux corp. métachromatiques comme aux globoïdes.

Structure des globoïdes.

On n'a pas signalé, à notre connaissance du moins, dans les corpuscules métachromatiques, la structure que nous avons rencontrée chez les globoïdes.

Les globoïdes, après fixation et coloration au bleu Unna, par exemple, se présentent généralement sous forme de globules plus fortement colorés à la périphérie qu'au centre. Souvent, aussi, ils offrent une zone centrale ou excentrique plus foncée, et enfin, dans les cas les plus complexes, une série de zones alternativement plus claires et plus sombres à partir d'un hile excentrique et lui-même plus foncé. Les zones externes peuvent être très pâles. Cette disposition est déjà sensible dans la graine à l'état de vie ralentie, mais elle l'est beaucoup plus à certains stades de la germination où ces corps semblent avoir subi une sorte de gonflement : par exemple dans les cotylédons de Courge, vers le dixième jour, où l'on constate la présence dans la cellule d'énormes granules métachromatiques; il y en a souvent un seul par cellule situé dans une grande vacuole (Pl. III, fig 13). Le fait d'un corps devenu unique tandis qu'il existait de nom-

Digitized by Google

breux globoïdes avant la germination, fait supposer que ceux-ci se sont non seulement gonflés mais encore fusionnés.

La constatation que pendant les premiers stades de la germination les corpuscules augmentent en nombre, en même temps qu'en volume, pourrait faire penser un instant à la production, au début de la germination, de néoformations. Nous ne pensons pas que cette explication puisse être admise car nous avons pu provoquer artificiellement, aux dépens des globoïdes préexistants, un semblable aspect. En effet, en faisant agir sur une préparation d'albumen de Ricin non germé une solution ammoniacale concentrée d'oxalate d'ammoniaque et de chlorydrate d'ammoniaque dans l'eau, en lavant la coupe, en la passant à l'alcool et en la colorant, on remarque que les grains se sont gonflés et ont pris la structure remarquable qu'ils offrent à des stades déjà avancés de la germination. Il semble que ce gonflement considérable et cette structure atteignent leur maximum de netteté aux stades qui précèdent immédiatement la dissolution. En effet, en augmentant un peu la concentration de la solution minérale employée ci-dessus, tout le globoïde disparaît sans qu'il en reste de traces et la coloration ultérieure au bleu Unna ne permet plus de distinguer que le réseau protoplasmique. Aux stades les plus avancés, les zones les plus externes du globoïde paraissent avoir plus ou moins complètement perdu la faculté de se colorer.

On peut se demander si cette structure n'est pas le résultat de la fixation; on peut même se demander si elle correspond à une véritable différenciation de la matière en zones concentriques ou s'il ne s'agit pas simplement d'un phénomène physique comparable aux anneaux de Newton, par exemple? Nous répondrons à cela que cette différenciation en couches de consistances différentes existe réellement, au moins dans la préparation fixée, car, en écrasant celle-ci on peut arriver à déboîter, pour ainsi dire, les couches les unes des autres et à expulser le corpuscule le plus central; en outre, l'absence de régularité des contours des zones emboîtées fait immédiatement abandonner cette hypothèse à qui a vu des préparations.

L'analogie de l'aspect de cette structure avec celui que présentent les grains d'amidon nous a fait comparer les zones

Digitized by Google

en question aux couches alternativement plus et moins hydratées des grains d'amidon. Quoi qu'il en soit, cette structure répond à une absence d'homogénéité de la substance des globoïdes.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Nous nous sommes particulièrement attaché dans cette étude à caractériser la substance organique azotée, déjà signalée par Pfeffer, qui sert de substratum aux sels minéraux des globoïdes des grains d'aleurone. Nous avons indiqué, dans ce but, de nombreuses colorations et réactions histo-chimiques.

Parmi les colorations, il faut mettre hors de pair celle que l'on obtient avec les couleurs basiques d'aniline allant du bleu au violet, qui donnent, avec les globoïdes, une coloration métachromatique d'un beau rouge.

Cette métachromasie fournit une méthode très sûre et très nette pour la recherche des globoïdes dans les graines. Grâce à elle, et à une technique plus perfectionnée que celle mise en œuvre par les anciens auteurs, nous avons pu reprendre l'étude de l'aleurone de certaines graines. Nous avons caractérisé quelques types à l'état de vie ralentie, nous avons suivi l'évolution de l'aleurone pendant la germination, ainsi que pendant la maturation de la graine. Nous donnons quelques figures qui pourraient servir à compléter certains dessins accompagnant les beaux mémoires classiques de Pfeffer, Wakker, etc. On trouvera, au cours de notre travail, quelques faits nouveaux, sur lesquels nous ne pouvons insister ici.

Contrairement à l'opinion admise que les globoïdes n'existent que comme enclaves des grains d'aleurone, nous avons constaté qu'il existait des granules de leur substance à l'état isolé, dans les téguments (où ils sont transitoires) et dans les autres tissus de la graine en voie de maturation. Au cours de la germination, ils persistent seuls, pendant quelque temps, après la dissolution du grain d'aleurone. Dans certaines graines adultes (marron d'Inde, par exemple) des granules analogues existent en dehors de grains d'aleurone proprement dits. Dans les graines à grains d'aleurone avec globoïde, on observe d'ailleurs souvent, en

Digitized by Google

dehors de ces grains, dans le cytoplasma intracellulaire et parfois, aussi, intercellulaire, des granulations présentant les caractères des globoïdes.

Une longue comparaison des propriétés histo-chimiques, et des colorations que peuvent prendre les « corpuscules métachromatiques » d'une part, et les globoïdes d'autre part ; celle de leurs propriétés physiologiques, telles que : présence, origine, évolution, nous porte à rapprocher la substance organique azotée des globoïdes de la substance des corpuscules métachromatiques des Protistes et autres organismes inférieurs. Il ne s'agit pas, sans doute, de substances identiques, mais de substances ayant de nombreuses propriétés communes et rentrant dans une même catégorie. D'ailleurs A. Meyer, étudiant la substance des corpuscules métachromatiques des Protistes, substance qu'il désigne sous le nom de volutine, fait remarquer qu'il existerait non pas une volutine, mais *des* volutines. Ce sont pour lui des substances de réserve constituant une catégorie physiologique de corps, au même titre que les graisses, les hydrates de carbone, etc. Seulement, tandis que ces corps ne renferment que des atomes de H, O et C, les volutines offrent vraisemblablement des atomes de Az et Ph, en combinaison organique.

Il est inutile d'insister sur l'intérêt qu'il pourrait y avoir à démontrer la continuité d'un groupe de corps qui paraissent très répandus et très abondants, non seulement chez les Protistes (Algues, Champignons, Bactéries, Trypanosomes, etc.), mais encore chez les plantes supérieures et les animaux.

Le rapprochement des « corpuscules métachromatiques » des Protistes de la substance organique azotée des globoïdes, permet de préciser le rôle des premiers en venant confirmer l'hypothèse qui leur attribue la valeur de substances de réserve. Cette hypothèse est encore étayée par le fait de l'existence de granules, ayant des propriétés analogues, dans diverses assises de l'anthère, mais surtout dans les assises nourricières ; ils présentent là, particulièrement, une analogie avec les granules des *Mastzellen* des tissus animaux.

Enfin, au cours de ces observations, poursuivies pendant

Digitized by Google

plusieurs années, nous avons noté certains détails de cytologie se rapportant à d'autres éléments que le grain d'aleurone, le noyau notamment, que l'on retrouvera exposés au cours de notre travail.

Digitized by Google

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Beauverie et **Guilliermond**, Études sur la structure du *Botrytis cinerea*. *Centralbl. f. Bakteriol.*, XV, 1903, p. 275-282, 311-320.

— 1. Note préliminaire sur les globoïdes et certaines granulations des graines ressemblant par quelques-unes de leurs propriétés aux corpuscules métachromatiques. *C. R. Acad. des Sc.*, avril 1906.

Beauverie (J.), 2. Études sur les corpuscules métachromatiques des graines. *Bull. de la Soc. de Biol.*, 1906.

— 3. Évolution des corpuscules métachromatiques des graines pendant la germination. *C. R. Acad. des Sc.*, novembre 1906.

— 4. Évolution de la protéine et du noyau des graines pendant la germination. *Bull. de la Soc. de Biol.*, novembre 1906.

— 5. Étude de faits nouveaux concernant les réserves de la graine et leur évolution pendant la germination. *Congr. de l'Assoc. franç. pour l'avanc. des Sc.*, Lyon, 1906.

— 6. Observations sur la formation des grains d'aleurone pendant la maturation de la graine. *C. R. Acad. des Sc.*, déc. 1907.

— 7. (En collaboration avec M. **Guilliermond**.) Caractères histo-chimiques des globoïdes de l'aleurone. *Bull. de la Soc. de Biol.*, 21 mars 1908.

Conte et **Vaney**, *C. R. Acad. des Sc.*, t. CXXXV, 1902.

Czapek (F.), *Biochemie der Pflanzen*, Iena, 1905, t. II, p. 145-159.

Guilliermond (Voy. **Beauverie**).

Guilliermond, 1. *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1906.

— 2. Quelques faits relatifs à la cytologie des graines de Graminées lors de la germination. *C. R. de l'Ass. franç. pour l'avancement des sciences*, p. 391. Congrès de Lyon, 1906.

— 3. Observations cytologiques sur la germination des graines de Graminées. *C. R. Acad. des Sc.*, 26 novembre 1906.

— 4. Nouvelles recherches sur la cytologie des graines de Graminées. *C. R. Acad. des Sc.*, 22 juillet 1907.

— 5. Sur les grains d'aleurone des Graminées. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 27 juillet 1907.

— 6. Remarques sur la structure des grains d'aleurone des Graminées. *C. R. Acad. des Sc.*, 4 novembre 1907.

— et **Mawas**, 7. Caractères histo-chimiques des granulations des *Mastzellen*, et rapport de ces corps avec la volutine des Protistes. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. LXIV, p. 307, 22 février 1908.

Joffrin (H.), Action de l'eau sur l'aleurone du Lupin blanc. *Rev. gén. de Botan.*, p. 327, 1906.

Ludtke (F.), Beiträge zur Kenntniss der Aleuronkörner. *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, t. VII, 1889, p. 282-291.

Meyer (Arthur). — Orientirende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. *Botanische Zeitung*, 1904, p. 113-152.

Mawas (Voy. **Guilliermond**).

Digitized by Google

PFEFFER (W.), 1. Untersuchungen über die Proteïnkörner und die Bedeutung des Asparagins beim Keimen der Samen. *Jahrb. f. wiss. Botanik*, 1872, vol. VIII, p. 429-575.

— 2. Ueber Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen. *Untersuch. a. d. bot. Inst. Tübingen*, 1886, Bd II, S. 179.

POSTERNAK (S.), Sur la composition chimique et la signification des grains d'aleurone. *C. R. Acad. des Sc.*, Paris, 30 janvier 1905.

REGAUD et POLICARD, Recherches sur la structure du rein de quelques Ophidiens. *Archiv. d'anatomie microscopique*, t. VI, 1903.

TSCHIRCH et H. KRITZLER, Ber. pharm. Ges., Bd X, Heft 6, 1900, p. 214.

— — Mikrochem. Untersuch. über d. Aleuronkörner. Bonn, 1900.

VANEY (Voy. CONTE).

VAN TIEGHEM (Ph.), Hydroleucites et grains d'aleurone. *Journ. de Botan.*, décembre 1888.

WAKKER (J.-H.), Studien ueber die Inhaltskörper der Pflanzenzelle. *Jahrb. f. wissenschaft. Botanik*, 1888, p. 423-496.

WERMINSKI (F.), Ueber die Natur der Aleuronkörner, *Berichte der deutsch. botan., Gesellschaft*, VI, 1888.

ZACHARIAS (E.), Ueber das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. *Flora*, t. LXXXI, p. 217-267, pl. V-VII.

Digitized by Google

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE III

Fig. 1. — Albumen de Ricin. Graine non germée. Métachromasie des globoïdes de grains d'aleurone par l'action du bleu polychrome de Unna.
Fig. 1'. — *Id.* Quelques cas de disposition des globoïdes.
Fig. 2. — *Id.* Il existe des granules métachromatiques pariétaux.
Fig. 3. — *Id.* Action du bleu de méthylène.
Fig. 4. — Ricin. Après quarante-huit heures de germination. (Bleu Unna.)
Fig. 5. — Ricin. Après trois jours de germination. (Bleu Unna.)
Fig. 6. — Ricin. Après cinq jours de germination. Cellules de la périphérie de l'albumen : l'aleurone a disparu, les noyaux sont devenus vésiculaires et énormes ; le protoplasma a pris une structure vacuolaire et dans les vacuoles subsistent encore de rares grains rouges. (Bleu Unna.)
Fig. 7. — *Id.* Après cinq jours de germination. Cellules profondes. (Bleu Unna.)
Fig. 8. — *Id.* Après huit jours de germination. (Bleu Unna.)
Fig. 10. — *Id.*, Après quarante-huit heures de germination. Cas de protoplasma intercellulaire avec corpuscules. (Bleu Unna.)
Fig. 11. — Courge, Cotylédon. Germination avancée. (Bleu Unna.)
Fig. 12. — — — Vingt-deux jours de germination. (Bleu Unna.)
Fig. 13. — — Coupe transversale vers la base d'un cotylédon. En bas deux corpuscules métachromatiques au même stade. Graine ayant dix jours de germination (axe hypocotylé, 8 centimètres de longueur). Coloration au bleu Unna après fixation au Lenhossek.
Les figures de cette planche ont été dessinées avec l'oculaire 6 et l'objectif à immersion homogène 1/12, Zeiss.

PLANCHE IV

Fig. 1. — Cellule du cotylédon du Lupin blanc. Graine non germée. Alcool, bleu Unna.
Fig. 2. — *Id.* Après action d'une solution de potasse à 5 p. 100. Alcool, bleu Unna. Les corpuscules qui représentent les globoïdes sont réunis dans la partie centrale des alvéoles qui existent dans le protoplasma apparaissant comme un fin réseau. La protéine a été dissoute.
Fig. 3. — *Id.* Après trois jours de germination. La coupe a été traitée par la solution de potasse à 5 p. 100 et colorée au bleu Unna.
Fig. 4. — *Id.* Germination plus avancée.
Fig. 5 et 6. — Cellules de l'albumen de Ricin, après quelques jours de germination. Fixation au formol, coloration au Giemsa. (L'éosine a coloré la protéine en rose, et le bleu azur a coloré le protoplasma et le noyau en bleu ou violet et les globoïdes en rouge (métachromasie).
Fig. 7. — Cellule de l'albumen du Ricin non germé. La préparation a été colorée au bleu de méthylène et décolorée ensuite par l'action de SO^4H^2 à 1 p. 100.
Fig. 8, 9, 10, 11 et 12. — Évolution de la protéine des cristalloïdes de l'aleurone dans la graine de Courge, au cours de la germination. Fixation au Lenhossek, coloration au bleu Unna.
Les préparations 1 à 5 et 8 à 12 ont été dessinées avec l'oculaire 6 et l'objectif à immersion homogène 1/12 de Zeiss.

Digitized by Google

ORIENTATION DE L'OVULE DANS LE PISTIL ET DE L'EMBRYON DANS LA GRAINE

CHEZ LES VALÉRIANACÉES

Par Ph. Van TIEGHEM

Dans deux publications récentes, on a montré qu'au point de vue de la direction de l'ovule dans le pistil et de l'embryon dans la graine il existe, d'une part entre les Labiées et les Boragacées, de l'autre entre les Rubiacées et les Caprifoliacées, une différence inaperçue jusqu'ici et qui doit entrer dans la caractéristique de ces familles (1). Chez les Labiées et chez les Rubiacées à carpelles uniovulés (Rubiées et Coffées), en effet, l'ovule anatrope épinaste a son raphé ventral avec plan de symétrie radial et la graine a son embryon incombant ; il en résulte que, dans le fruit, l'embryon a son plan médian radial. Chez les Boragacées et chez les Caprifoliacées, l'ovule anatrope exonaste a son raphé latéral avec plan de symétrie tangentiel et la graine a son embryon accombant : d'où résulte que, dans le fruit, le plan médian de l'embryon est radial, comme dans le premier cas.

Depuis, ayant étendu ce genre d'observations à d'autres familles, on a pu s'assurer que, notamment chez les Valérianacées, les choses se passent sous ce rapport comme chez les Boragacées et les Caprifoliacées.

Des trois carpelles fermés et concrescents qui composent le pistil infère des Valérianacées, un seul est fertile, comme on sait, les deux autres sont stériles à divers degrés. Dans le carpelle fertile, l'unique ovule est attaché au sommet de l'angle interne de la loge, anatrope, pendant, à raphé latéral, exonaste par conséquent et à plan de symétrie tangentiel. Dans la graine, qui est dépourvue d'albumen, l'embryon, qui est oléagineux et aleurique, est renversé et accombant au raphé. Dans le fruit, le plan médian de l'embryon est donc radial.

Si, conformément à l'opinion de Payer et de Baillon, l'on admet que l'ovule tourne son raphé en dehors, c'est-à-dire est épinaste avec plan de symétrie radial, on est conduit à regarder l'embryon comme incombant. C'est ce que j'ai dû faire, et encore récemment, tant que je n'avais pas remarqué la véritable orientation de l'ovule (2). Il y a donc là une erreur à corriger.

Les Dipsacacées donnent lieu à une remarque analogue, comme il sera dit dans un prochain travail.

(1) Ce Recueil, V, p. 321, 1907, et VII, p. 128, 1908.

(2) Ph. Van Tieghem : *Éléments de Botanique*, 4e édition, II, p. 610, 1906.

Digitized by Google

ANNALES

DES

SCIENCES NATURELLES

NEUVIÈME SÉRIE

BOTANIQUE

COMPRENANT

L'ANATOMIE, LA PHYSIOLOGIE ET LA CLASSIFICATION DES VÉGÉTAUX VIVANTS ET FOSSILES

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

M. PH. VAN TIEGHEM

TOME VIII. — Nos 4 à 6.

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain

1908

PARIS, 30 FR. — DÉPARTEMENTS ET ÉTRANGER, 32 FR.
Ce cahier a été publié en février 1909
Les *Annales des Sciences naturelles* paraissent par cahiers mensuels.

Digitized by Google

Conditions de la publication des Annales des Sciences naturelles

NEUVIÈME SÉRIE

BOTANIQUE

Publiée sous la direction de M. Ph. van Tieghem.

L'abonnement est fait pour 2 volumes, chacun d'environ 400 pages, avec les planches et les figures dans le texte correspondant aux mémoires.

Ces volumes paraissent en plusieurs fascicules dans l'intervalle d'une année.

Les tomes I à XX de la Huitième série et les tomes I à VIII de la Neuvième série sont complets.

ZOOLOGIE

Publiée sous la direction de M. Edmond Perrier.

L'abonnement est fait pour 2 volumes, chacun d'environ 400 pages, avec les planches correspondant aux mémoires.

Ces volumes paraissent en plusieurs fascicules dans l'intervalle d'une année.

Les tomes I à XX de la Huitième série et les tomes I à VI de la Neuvième série sont complets.

Prix de l'abonnement à 2 volumes :

Paris : 30 francs. — Départements et Union postale : 32 francs.

ANNALES DES SCIENCES GÉOLOGIQUES

Dirigées, pour la partie géologique, par M. Hébert, et pour la partie paléontologique, par M. A. Milne-Edwards.

Tomes I à XXII (1879 à 1891). Chaque volume ..... 15 fr.

Cette publication est désormais confondue avec celle des *Annales des Sciences naturelles*.

Prix des collections.

Première série (Zoologie et Botanique réunies, 30 vol.		(*Rare*)
Deuxième série (1834-1843).	Chaque partie 20 vol.	250 fr.
Troisième série (1844-1853).	Chaque partie 20 vol.	250 fr.
Quatrième série (1854-1863).	Chaque partie 20 vol.	250 fr.
Cinquième série (1864-1874).	Chaque partie 20 vol.	250 fr.
Sixième série (1875 à 1884).	Chaque partie 20 vol.	250 fr.
Septième série (1885 à 1894).	Chaque partie 20 vol.	300 fr.
Géologie, 22 volumes. . .	. . . . .	330 fr.

Digitized by Google

OBSERVATIONS SUR LES DIATOMÉES

Par M. L. MANGIN

I

CONSTITUTION CHIMIQUE DE LA MEMBRANE

Historique. — L'existence d'une membrane de nature organique dans les valves siliceuses des Diatomées a été mise en en évidence il y a plus d'un demi-siècle, mais la nature de cette substance n'a pas encore été précisée nettement.

L'incertitude dans laquelle on est resté si longtemps paraît due à deux causes. D'une part, la découverte de la réaction iodée de la membrane cellulosique n'a révélé pendant longtemps, dans la paroi cellulaire, d'autre substance que la cellulose et l'on s'est borné, par extension, sans s'appuyer sur des recherches spéciales, à appliquer à la plupart des membranes végétales les données que les réactifs iodés, longtemps seuls en usage (chlorure de zinc iodé, acide sulfurique iodé), avaient précisé pour quelques tissus. D'autre part, le squelette siliceux de la plupart des Diatomées, au moins des Diatomées de fond, est si facile à isoler par la calcination, que les diatomistes ont fondé la systématique des nombreux genres de cette famille sur la constitution des valves siliceuses, sans se préoccuper de la partie organique. Aussi tous les travaux publiés, même les plus récents, sur la constitution de la membrane, ne s'appliquent-ils qu'à sa structure intime et ne contiennent-ils aucune indication sur sa constitution chimique.

C'est dans une courte note de Bailey, publiée en 1851 (1), que

(1) J.-W. Bailey, *On the cell-membrane of Diatomeous Skells. Miscellanous notices* (The american Journal of Science and Arts. Second series, vol. XI, 1851, p. 350).

Digitized by Google

l'on trouve la premiére mention d'une membrane organique dans les valves siliceuses des Diatomées.

« Si l'acide fluorhydrique est appliqué sur les Diatomées récentes, la silice est bientôt dissoute, laissant une membrane cellulaire interne conservant la forme générale des valves... »

L'auteur ajoute que l'isolement de la membrane ne réussit pas bien quand les Diatomées ont subi l'action de l'acide nitrique avant celle de l'acide fluorhydrique.

L'acide azotique est en effet toujours employé pour laver les Diatomées avant de les soumettre à la calcination.

En 1862, Lüders (1) donne quelques détails complémentaires sur la constitution de la membrane des Diatomées, en citant l'observation de Bailey.

« A l'utricule primordiale (nous dirions maintenant : membrane protoplasmique) fait suite une mince membrane cellulaire dont le développement peut être facilement suivi pendant la division cellulaire et la formation des cellules sporangiales... »

« Par l'emploi de divers réactifs... notamment par l'acide sulfurique étendu... chez *Achnanthes longipes*, la valve siliceuse se sépare facilement, comme chez d'autres espèces, de la membrane, de sorte que les deux parties séparées restent l'une contre l'autre. »

« Smith (2) rapporte le même fait pour le *Stauroneis pulchella*. Par l'acide fluorhydrique la valve siliceuse se laisse facilement dissoudre de sorte que la membrane demeure seule.

« La membrane cellulaire ne s'épaissit jamais, elle est aussi mince dans la paroi des cellules vieilles que dans celle des cellules sporangiales sur laquelle commence d'abord la formation du revêtement siliceux.

« Celui-ci, qui constitue la partie la plus externe des valves des Diatomées, naît par l'excrétion de la silice qui se dépose sur la partie externe de la membrane. Cette excrétion paraît durer pendant toute la vie de la cellule... »

(1) *Beobachtungen über die Organisation, Theilung und Copulation der Diatomeen*, par Jos. E. Lüders (Bot. Zeit., 1862, T. XX, p. 41, Tafel II).

(2) Smith, *A. Synopsis of British Diatomacee*, vol. I, p. 19.

Digitized by Google

Ainsi, pour Lüders comme pour Bailey, la partie organique de la membrane est interne, mince et ne s'épaissit pas, la plus grande partie des valves est constituée par un dépôt de silice, produit de sécrétion.

La nature de la membrane organique n'a même pas été envisagée.

Weiss (1), le premier, donne des indications sur cette nature. Il n'admet pas que la silice soit déposée dans les valves à la surface d'une membrane organique; la substance minérale et la substance organique sont si intimement mélangées, nous dirions maintenant combinées, que la silice masque, par sa présence, les réactions de la membrane.

Aussi pour rendre visibles les réactions de la substance organique, a-t-il cherché à la séparer de la substance minérale par l'emploi de l'acide fluorhydrique ou de la solution de potasse (2). Après ce traitement, Weiss a constaté que les membranes manifestent « *im ganz augenscheinlicher Weise* », la réaction de la cellulose; toutefois l'auteur ajoute que l'obtention de cette réaction est très délicate et exige beaucoup de soin. Il ne précise d'ailleurs pas les conditions nécessaires pour la réaliser à coup sûr, même sur les grandes formes des Diatomées marines qui sont d'après lui les objets les plus favorables (*Melosira Fragilaria*, etc.) pour cette observation. La conclusion est très nette :

« Ich glaube demnach den Zellstoff — die cellulose — als Grundlage des Diatomeenkörpers nachgewiesen zu haben. »

Weiss complète ses indications en insistant sur l'inégale répartition de la silice dans la membrane, non seulement chez des individus différents, mais encore chez un seul et même individu.

L'autorité qu'on aurait pu accorder à ces observations est singulièrement affaiblie par la conception de l'auteur ; il se

(1) A. Weiss, *Zum Baue und der Natur der Diatomaceen* (Sitzungsberichte der k. Akademie der Wissenschaft zu Wien, 1871, T. LXIII, p. 83-118, Taf. I und II).

(2) « Ich suchte desshalb, um die Reactionen deutlicher zu machen, die äusserste Lagen dadurch zu lockern, das ich dürch Fleissaure oder Kalilauge den Grössten Theil der Kieselsaure entfernte. »

Digitized by Google

refuse à voir dans chaque Diatomée un organisme unicellulaire, il décrit celle-ci comme un agrégat de cellules et figure dans ses planches le tissu cellulaire des *Ithsmia Pleurosigma*, etc.!

Les observations de Weiss n'ont pas été confirmées par ses successeurs. E. Pfitzer (1) écrit en 1882 « que la partie fondamentale de la membrane, comme chez toutes les membranes cellulaires, est une substance organique ; ainsi on peut enlever la silice par l'acide fluorhydrique et isoler la partie fondamentale de la membrane sous l'aspect d'une membrane mince et flexible.

« Cette dernière constitue une modification de la cellulose qui, sous l'influence de l'iode après l'action de l'acide sulfurique, des solutions alcalines ou de l'acide nitrique et du chlorate de potassium, devient brun jaune mais *jamais* bleue ».

Pfitzer n'a pas réussi à vérifier les données de Weiss sur la nature cellulosique de la membrane.

L'idée de considérer la partie organique de la membrane comme de la cellulose, bien qu'elle n'en possède pas les réactions colorantes, tient à ce fait qu'à l'époque où Pfitzer écrivait (1882) on ne connaissait pas d'autre substance que la cellulose dans la partie fondamentale de la membrane.

L'impossibilité de colorer la substance fondamentale de la membrane des Diatomées n'a suscité depuis 1882 aucune recherche nouvelle et les auteurs, assez nombreux, qui ont étudié la formation du mucilage que produisent ces plantes n'ont pas songé que sa formation pouvait être dépendante de la partie organique de la membrane, comme cela a lieu pour les Phanérogames et, parmi les Thallophytes, chez un grand nombre d'Algues. D'ailleurs certains auteurs paraissent peu au courant des faits maintenant classiques qui ont modifié la conception primitive de la constitution de la membrane. Ainsi Schütt, dans ses longues dissertations sur le protoplasme extracellulaire, discute la nature des filaments qui réunissent les

(1) E. Pfitzer, *Bau der Bacillariaceen*, p. 410, in Schenk. Handbuch der Botanik, 1882, Breslau.

(2) Schütt, *Centrifugales Dickenwachsthum der Membran und extramembranöses Plasma* (Jahrb. f. Wissensch. Bot., T. XXXIII, p. 650, 1899).

Digitized by Google

Diatomées en colonies et particulièrement ceux du *Cyclotella socialis*.

« Résumerai-je, écrit-il, les résultats de ces réactions, j'arrive à cette conclusion que les filaments ne se composent ni de plasma, ni de cellulose pure, ni de la substance silicifiée de la membrane des Diatomées, mais qu'ils peuvent être formés d'une modification de la cellulose qui n'est pas colorée en bleu par l'iode. Pareille modification de la cellulose se trouve chez les Thallophytes, dans la membrane des champignons et des Diatomées. » M. Schütt paraît ignorer que les substances fondamentales de la membrane sont variées et qu'un certain nombre d'entre elles possèdent des réactions microchimiques suffisamment précises.

Nous trouvons enfin dans l'ouvrage original et remarquablement exposé de M. Oltmanns l'expression des idées qui sont généralement admises sur la structure de la membrane chez les Diatomées (1).

« La membrane des Diatomées présente une substance fondamentale organique qui, d'après quelques auteurs, donne la réaction de la cellulose, d'après d'autres non, mais qui se tient sans aucun doute voisine de la cellulose.

« Cette substance est imprégnée d'une combinaison du silicium, qui est le plus souvent très abondante mais peut cependant, chez beaucoup de Diatomées du plancton, diminuer considérablement.

« Par la calcination, par l'emploi des acides concentrés et des oxydants (chlorate de potassium et acide azotique), par la putréfaction, on peut débarrasser la silice des autres parties de la cellule et, inversement, on peut enlever la silice par l'acide fluorhydrique et isoler la substance organique. Théoriquement dans les deux cas, la structure de la membrane est visible parce que, comme il a été dit, les deux composantes de la membrane se pénètrent. Dans la pratique toutefois, cette structure n'est pas nette dans la préparation à l'acide fluorhydrique à cause de la mollesse de la masse semblable à la cellulose; tandis

(1) Oltmanns, *Morphologie und Biologie der Algen*. Iéna, 1904, Bd I, p. 102.

Digitized by Google

que tous les dessins apparaissent avec une grande netteté dans les squelettes siliceux isolés... »

M. O. Heinzerling (1) se borne à reproduire les idées exprimées par Pfister.

Recherches originales. — On voit par ces extraits, auxquels je borne ce court aperçu historique, que si l'idée primitive d'une membrane organique mince, recouverte d'un enduit siliceux formé par excrétion, a été, avec raison, abandonnée pour une conception plus exacte dans laquelle la membrane organique est intimement mélangée à la silice, la vraie nature de cette membrane est encore inconnue.

J'ai été amené à reprendre cette question dans une série d'études sur le plancton. La faible silicification des valves chez les Diatomées pélagiques rend ces espèces si fragiles qu'on ne peut les étudier par les procédés employés par les diatomistes sans les briser; j'ai donc cherché à colorer la partie organique des valves et je ne pouvais obtenir de résultats satisfaisants qu'en déterminant la vraie nature de cette membrane organique.

Parmi les substances fondamentales de la membrane : trois groupes seulement, comme je l'ai établi depuis longtemps, sont faciles à déceler au milieu des tissus par des réactions microchimiques très nettes; 1° *le groupe des celluloses ;* 2° *le groupe des composés pectiques ;* 3° *le groupe des calloses.*

En soumettant les Diatomées, aussi bien celles du plancton que les Diatomées de fond, à l'action des divers réactifs de la membrane, il est aisé de constater que la membrane des Diatomées ne manifeste ni les réactions de la cellulose, ni celles de la callose.

En ce qui concerne la cellulose, A. Weiss aurait obtenu la réaction bleue de l'iode employé en mélange avec l'acide sulfurique, mais de son aveu même, la réaction est très délicate et on doit y apporter beaucoup d'attention ; mais il s'est gardé

(1) O. Heinzerling, *Der Bau der Diatomeenzelle*, etc., Heft 68, p. 28 (Bibliotheca botanica, Stuttgart, 1908).

Digitized by Google

d'indiquer les précautions à prendre pour obtenir toujours et à coup sûr la coloration caractéristique.

Aussi ceux qui ont voulu reproduire ses résultats, Pfitzer entre autres, l'ont-ils fait sans succès. Le réactif employé par A. Weiss, l'acide sulfurique iodé, est en effet d'un emploi très incertain et ses résultats sont toujours aléatoires. J'ai fait connaître une série de réactifs beaucoup plus précis et, parmi eux, j'emploie toujours de préférence l'*acide iodhydrique iodé fumant*, car c'est le seul qui donne des résultats certains, et j'ai examiné non seulement les Diatomées pélagiques, mais aussi les Diatomées de fond appartenant aux genres les plus différents : *Navicula*, *Pleurosigma*, *Surirella*, *Licmophora*, *Amphora*, *Synedra*, etc. Dans tous les cas la membrane des Diatomées ne *m'a jamais fourni de coloration.*

Après l'action de l'acide iodhydrique iodé les préparations ont été additionnées de chloral glycériné qui est très réfringent. Dans ces conditions, les Diatomées ne laissent apparaître aucune trace de la membrane, qui demeure complètement incolore et se confond avec le milieu ; si ces Diatomées ne renfermaient un contenu coloré en jaune, elles seraient complètement indistinctes dans la préparation et l'on pourrait croire qu'elles sont absentes.

Je suis donc fondé à déclarer que la cellulose manque dans la membrane des Diatomées; c'est une exception parmi les algues, où jusqu'ici j'ai toujours observé la présence de cette substance, le plus souvent associée aux composés pectiques (Desmidiées, Conjuguées, Chlorophycées, Phéophycées, etc.) rarement seule comme je l'ai montré pour les Péridiniens.

En ce qui concerne la callose, définie comme on le sait, soit directement, soit après l'action des oxydants seuls ou suivie de l'action de la potasse caustique, par ses affinités spéciales pour les bleus de triphénylméthane trisulfonés (Bleus cotons, Bleus papier, Bleus solubles) ou par les colorants azoïques (Congo, Benzoazurine, Benzopurpurine, etc.). La membrane des Diatomées est complètement inerte vis-à-vis de ces réactifs ; il n'est donc pas possible d'y déceler la callose pas plus que la cellulose.

Parmi les substances fondamentales de la membrane, dont les réactions colorantes sont bien définies, il ne nous reste

Digitized by Google

plus à examiner que les composés pectiques dont j'ai montré depuis longtemps l'importance dans tous les tissus de végétaux.

Ainsi que je l'ai établi, ces composés fixent les colorants basiques en milieu *neutre* : le bleu de méthylène, la safranine, le rouge neutre (Cassella), le bleu de naphtylène, etc.

Parmi ces colorants le rouge de ruthénium a une puissance d'élection toute spéciale, et l'hématoxyline alunée vieille rend également de grands services.

Or si l'on emploie ces réactifs avec des Diatomes fraîches ou conservées dans l'alcool, on n'obtient aucune coloration ou seulement une faible élection de la matière colorante et l'on serait tenté de conclure, d'après ces essais souvent négatifs, à l'absence des composés pectiques dans la membrane des Diatomées.

Mais on sait que la substance fondamentale des membranes est souvent masquée dans ses réactions par les substances accessoires avec lesquelles elle est combinée. C'est ce qui arrive, on le sait depuis longtemps et M. Czapeck l'a établi avec netteté (1), pour la cellulose et les composés pectiques des membranes lignifiées dont les réactions sont masquées par la combinaison de ces substances avec l'hadromal ; dès que cette combinaison est détruite, les réactifs de la cellulose et des composés pectiques donnent des résultats positifs.

J'ai pensé que chez les Diatomées, la silice qui donne aux valves leur rigidité, n'existe pas à l'état de simple imprégnation, mais qu'elle constitue une combinaison très intime avec la partie organique de la membrane ; elle forme peut-être un éther? Quoi qu'il en soit de la nature de cette combinaison, je me suis proposé de la détruire, soit par l'action de la potasse caustique seule, soit par l'action combinée des oxydants et de la potasse. A cet effet, j'ai fait macérer des dépôts riches en Diatomées d'abord dans une solution d'acide chlorhydrique étendue de son volume d'eau et additionnée de chlorate de potassium ; après vingt-quatre heures d'action, le dépôt a été lavé par centrifugation, puis traité par l'alcool absolu et par la potasse alcoolique en solution sirupeuse. Après la macé-

(1) Fr. Czapek, *Ueber die sogenannten Ligninreaction der Holzer*. Hoppe Seyler (Zeitschrift für Physiologische Chemie, 1899, T. XXVII, p. 141).

Digitized by Google

ration dans la potasse, le dépôt a été lavé à l'alcool ordinaire, à l'alcool absolu, puis additionné d'une solution d'acide borique à 3 p. 100. Le dépôt blanc obtenu, constitué par les carapaces des Diatomées dépourvues de toute substance plasmique, se colore admirablement par le rouge de ruthénium et d'une manière très intense. Les moindres détails de structure des valves, stries, perles, etc., apparaissent alors si nettement qu'il n'est pas nécessaire de rechercher des médiums très réfringents ou d'employer des grossissements exagérés pour les apercevoir ; ces grossissements considérables ne sont nécessaires que pour résoudre les stries très fines de certaines espèces du genre *Pleurosigma*. Mais dans ce cas même, la coloration est si puissante qu'il ne peut exister aucune incertitude sur la structure délicate des frustules.

Ainsi se trouve démontrée l'existence des composés pectiques dans la membrane des valves chez les Diatomées.

Si l'on pouvait conserver quelques doutes à ce sujet, il suffirait de constater que dans une solution de potasse caustique à 5 p. 100, une courte ébullition suffit non seulement pour dissoudre la partie organique de la membrane, mais aussi, chez les espèces faiblement silicifiées, pour dissoudre la totalité et faire disparaître le dépôt qu'on avait isolé.

Je puis donc conclure de ces observations que *chez les Diatomées, la partie organique de la membrane est constituée par des composés pectiques à l'exclusion de la cellulose et de la callose.*

Cette constitution particulière de la membrane distingue les Diatomées de toutes les autres plantes car, à ma connaissance, il n'existe pas d'autre exemple de membrane constituée par les composés pectiques seuls.

Relations entre la partie organique et la partie minérale de la membrane. — Comme nous l'avons vu dans le court historique rappelé au début de ce travail, la conception d'une membrane organique indépendante de revêtements silicaux a été rapidement abandonnée. Weiss a été le premier, malgré l'incertitude de ses observations, à affirmer que la partie organique était intimement unie à la silice, mais l'impossibilité de colorer la

Digitized by Google

membrane organique ne permettait pas de préciser davantage les rapports des constituants des valves des Diatomées. Cette difficulté n'existe plus et il est facile de montrer que les moindres ornements de la membrane renferment à la fois la silice et les composés pectiques.

Je prendrai comme exemple le *Bidulphia mobiliensis*, très fréquent comme espèce néritique dans le plancton recueilli à peu de distance des côtes. On sait que les valves présentent une structure purement réticulée, due à l'existence de stries, les unes orientées parallèlement à l'axe pervalvaire, les deux autres obliques par rapport à cet axe. Ce système de stries s'observe avec netteté sur les préparations lavées à l'acide nitrique et calcinées.

Si on traite les *Bidulphia* par les oxydants (chlorale de potassium et acide chlorhydrique ; eau de brome, hypochlorite de potassium, etc.), puis par la potasse et qu'après neutralisation en solution alcoolique on colore par le rouge de ruthénium, on obtient des valves plus ou moins plissées, qui sont devenues molles par suite de la disparition d'une partie de la silice dissoute par la potasse. Or le système des stries apparaît avec une grande netteté même avec des grossissements plus faibles que ceux exigés par l'examen des carapaces calcinées (1).

Dans certaines préparations où l'action des réactifs a été plus prolongée, ou bien sur des exemplaires plus délicats, on voit que l'un, ou même deux des systèmes de fibres ont été partiellement enlevés, et il n'en reste plus qu'un représenté par les fins filaments parallèles à l'axe, souvent légèrement ondulés parce que la membrane qui persiste est d'une grande délicatesse.

On aperçoit alors un grand nombre de trous, d'abord très petits et correspondant aux mailles du réseau de fibres, puis peu à peu confluents et formant des fentes parallèles au système de fibres le plus résistant qui est ordinairement orienté perpendiculairement aux valves, c'est-à-dire suivant l'axe pervalvaire. Ce système de fibres représente-t-il toute la paroi des

(1) Il arrive parfois que les épines ou certaines parties des valves ne se colorent pas, cela tient à l'abondance et à l'épaisseur de la silice dans ces régions, qui sont incomplètement dissociées.

Digitized by Google

valves comme le démontre l'examen du squelette siliceux ? Il n'en est rien, on peut observer que la trame fibrillaire est fixée par une membrane continue extrêmement mince ne présentant dans toute l'étendue des valves *aucune solution de continuité*. Il n'existe donc aucun pore sur les valves de *Bidulphia mobiliensis*. J'ai bien observé des perforations plus ou moins régulières, mais seulement, comme il a été dit plus haut, quand l'action des réactifs a été prolongée et a provoqué un commencement de dissolution de la membrane continue et des systèmes de fibres qui forment la trame seule visible sur le squelette siliceux.

La membrane organique est-elle entièrement imprégnée de silice ? L'expérience suivante nous permettra de répondre. Si l'on fait bouillir dans une solution de potasse caustique à 4 p. 100 les sédiments riches en Diatomées, on dissout les composés pectiques libres, mais la partie des valves combinée à la silice résiste plus longtemps ; on constate alors que les valves ne se colorent plus par l'hématoxyline parce que ce qui reste de la membrane organique étant combiné à la silice n'a pas d'élection colorante marquée. Pour obtenir de nouveau une coloration suffisante, il faut traiter les Diatomées par les oxydants, et, après l'action de la potasse alcoolique, les valves se colorent très nettement en donnant alors les mêmes images que le squelette siliceux.

D'autre part, quand l'hématoxyline est fixée sur les Diatomées fraîches, la coloration des valves est uniforme et les détails de structure qui chez le *Bidulphia* consistent dans une trame fibrillaire à mailles très fines, n'apparaissent pas ; il semble donc qu'une partie de la substance organique n'est pas silicifiée et cette partie est intercalée entre les fibrilles et les recouvre d'une épaisseur plus ou moins grande.

Il y aurait donc lieu de distinguer dans la membrane, deux parties qui se pénètrent plus ou moins : un squelette siliceux nettement combiné avec la substance pectosique de la membrane et constituant tous les ornements que révèlent l'examen microscopique des valves calcinées ; puis une matière pectosique libre qui tout en pénétrant le squelette siliceux forme à la surface des valves une membrane externe pectosique.

Digitized by Google

L'existence de cette membrane externe pectosique non silicifiée paraît être le cas le plus ordinaire. L'observation suivante le démontre, lorsque l'on colore les Diatomées de fond après l'action successive de l'acide chlorhydrique et du chlorate de potassium, puis de la potasse caustique, la membrane anhiste se détache souvent du réseau sous-jacent demeuré rigide par la présence de la silice et il se forme ainsi des ampoules plus ou moins développées sur les bords ou sur les faces des valves. Ces ampoules sont tout à fait semblables à celles qui se produisent sur les coupes transversales des feuilles ou des jeunes rameaux traitées par l'eau de Javel ; la cuticule se décolle partiellement de la membrane épidermique sous-jacente et forme de nombreuses ampoules.

En résumé, les valves des Diatomées sont constituées par une substance organique identique aux composés pectiques et combinée plus ou moins étroitement à la silice ; le squelette siliceux ainsi formé est imprégné et revêtu d'une membrane anhiste externe qui masque souvent, au moins dans le plancton, les ornements caractéristiques et qui est rapidement dissoute par les réactifs.

Cette structure explique bien des anomalies observées notamment chez les Diatomées du plancton.

Chez un grand nombre d'espèces à valves cylindriques comme *Bacteriastrum*, *Leptocylindrus*, *Chætoceros*, etc., on n'a pas signalé jusqu'à présent les anneaux intercalaires nombreux ou les écailles losangiques, si faciles à mettre en évidence chez les *Rhizosolenia* : cela tient à la faible silicification d'une part et d'autre part à l'épaisseur de la membrane anhiste ; or ces anneaux intercalaires existent partout, comme je le montrerai plus loin.

D'autre part, chez les Diatomées à valves cylindriques, la silicification est très faible ou nulle au niveau de séparation des écailles ou des anneaux, ainsi chez divers *Rhizosolenia*, notamment chez *Rh. Shrubsolei* (*R. imbricata*) après le traitement par les oxydants et la potasse caustique, les valves devenues très délicates se brisent ou se déchirent, mais les déchirures ont presque toujours lieu suivant la ligne de moindre résistance, c'est-à-dire le long des lignes de séparation des

Digitized by Google

anneaux ou des écailles. Parfois même la membrane se déroule comme si la paroi cylindrique était formée d'un ruban enroulé en hélice.

Conséquences de la structure de la membrane. — La constitution de la membrane telle qu'elle vient d'être décrite explique tout naturellement la formation de la gelée qui entoure chaque individu ou qui se localise en des points plus ou moins étendus de la surface.

Les composés pectiques sont en effet caractérisés, comme on le sait, par la facilité avec laquelle ils se transforment en mucilage ; puisque les valves sont revêtues d'une membrane externe le plus souvent dépourvue de silice, il n'est pas difficile d'admettre que la partie externe de cette membrane est susceptible d'absorber l'eau et de se gonfler en donnant naissance à un mucilage plus ou moins épais. Quand ce mucilage se liquéfie autour de chaque individu, ceux-ci demeurent isolés, mais on peut toujours le mettre en évidence en examinant les Diatomées dans une solution neutre très colorée, comme l'ont observé depuis longtemps Pfitzer, Lauterborn, etc.

Cette gelée peut être assez abondante pour réunir plusieurs individus en colonie cylindrique comme certains *Chætoceros*, sphérique comme chez le *Chætoceros sociale*, mais le plus souvent cette gelée devient très diffluente et communique à l'eau de mer une viscosité particulière. C'est grâce à cette viscosité que les filets employés pour la pêche du plancton se colmatent avec rapidité dans les régions très riches en Diatomées.

Quand on traite les récoltes par l'alcool, cette gelée se précipite et elle englobe toutes les particules organiques renfermées dans l'eau de mer ; à certains moments, elle est si abondante, qu'elle peut faire croire à un abondant dépôt de plancton, mais, lorsque l'on recueille le dépôt et qu'on le lave à l'eau, ce dépôt se réduit en mucilage entièrement dépourvu d'organismes. J'ai reçu d'Arcachon, un échantillon de plancton dont la totalité était formée par du mucilage coagulé.

Digitized by Google

II

CROISSANCE DE LA MEMBRANE

La structure que nous avons établie, nous amène à discuter la question de la croissance de la membrane, singulièrement compliquée depuis quelques années par l'hypothèse de Schütt(1), sur la croissance extérieure provoquée par le protoplasme extra-membraneux.

Sans reprendre ici les discussions sur la croissance qui n'ont guère plus qu'un intérêt historique, on admet aujourd'hui que la membrane, essentiellement inerte, est sous la dépendance du protoplasme qui peut, à chaque instant, modifier sa structure physique ou sa constitution chimique. Les termes de croissance par opposition, croissance par intussusception n'expriment plus aujourd'hui, d'une manière précise, le mode complexe de la croissance.

Pour prendre un exemple, considérons une cellule du parenchyme d'une phanérogame qui a cessé de se cloisonner et qui évolue vers la forme adulte qu'elle devra désormais conserver ; le protoplasme épaissit peu à peu cette membrane et cet épaississement peut se faire en direction centripète, mais même dans ce cas où la croissance par apposition est très nette, le protoplasme modifie sans cesse la constitution de la membrane dans toute son épaisseur. Je n'en citerai pour preuve que la répartition inégale de la cellulose et des composés pectiques dans les membranes des tissus mous, ainsi que l'apparition des méats intercellulaires et la formation, sur la paroi externe de ces méats, de dépôts figurés de forme variée : boutons, crêtes, bâtonnets dont j'ai depuis longtemps signalé l'existence (2).

Il est vrai qu'on a cherché à expliquer ces formations extracellulaires par l'existence de protoplasme dans les méats intercellulaires. Mais Kny (3) a reconnu récemment « que la

(1) Schütt, *Centrifugales Dickenwachsthum der Membran und extramembranöses Plasma* (Jahrb. f. Wissenschaft., Bot., Bd XXXIII, 1899.

(2) L. Mangin, *Recherches anatomiques sur la distribution des composés pectiques chez les végétaux* (Journal de Botanique, 1892-1893).

(3) L. Kny, *Studien über intercellulares Protoplasma* (Berichten d. Deutsch. Bot. Gesells., T. XXII, 1904, I, p. 29 ; II, p. 347 et T. XXIII, 1905, III, p. 97.

Digitized by Google

présence de protoplasme intercellulaire est de nouveau douteuse », et par là il a démontré le peu de fondement des données sur lesquelles on s'appuyait pour admettre l'existence de la croissance centrifuge chez les phanérogames (1).

Schütt, dont les belles études sur les organismes du plancton, Péridiniens et Diatomées, font autorité dans la science, a été frappé par l'importance et la variété des ornements extérieurs de la membrane, constitués non seulement par les crêtes, tubercules ou épines déjà rencontrés dans l'épispore ou l'exine, mais par de larges expansions aliformes : *Dinophysis*, *Ornithocercus*, etc., ou par des cornes démesurément longues, *Chætoceros*, *Bacteriastrum*, *Ditylium*, etc., et il a pensé qu'un développement aussi exagéré d'ornements très éloignés de la masse protoplasmique centrale, emprisonnée dans une carapace plus ou moins rigide, ne pouvait être expliqué que par un mode particulier de croissance « *Dickenwachsthum centrifugales* » dont le prodrome nécessaire est la présence de « l'*extramembranöses Plasma* ».

Pour justifier cette hypothèse il fallait avant tout démontrer l'existence de protoplasme extramembraneux. C'est ce qu'a tenté Schütt dans une série de mémoires où les considérations théoriques masquent trop souvent l'incertitude de la démonstration expérimentale.

Bien que ce travail ne concerne que les Diatomées, il nous est impossible de ne pas discuter les questions relatives aux Péridiniens que Schütt a réunis avec les Diatomées et les Desmidiées sous le terme de Placophytes et opposé à toutes les autres plantes ou Saccophytes. Ayant à établir que, chez les Péridiniens, le protoplasme peut et doit sortir de la carapace pour édifier les ornements extérieurs dont celle-ci est couverte, la première préoccupation de Schütt est de démontrer que les nombreux pores dont cette carapace est munie, sont des trous et non de simples ponctuations fermées par une membrane très mince. L'argumentation de Schütt est au moins singulière, il se demande à quoi peuvent bien servir ces pores, s'ils sont

(1) Exception faite toutefois pour les spores, les grains de pollen, dont les ornements extérieurs peuvent être produits par le périplasme, reste du protoplasme de la cellule mère qui n'a pas été employé à la formation des cellules filles.

Digitized by Google

bouchés et il conclut qu'ils ne peuvent servir qu'aux échanges nutritifs. Mais alors, puisque leur surface représente à peine 1,3 p. 100 de la surface totale, comment pourraient-ils servir à des échanges nutritifs? Si en raison de leur faible surface ils ne peuvent servir à cet usage, ils doivent jouer un autre rôle aussi important : celui de permettre la sortie du protoplasme extramembraneux : donc ils sont perforés! (1).

Sans nous attarder plus longtemps à cette discussion, contentons-nous d'observer que Schütt ne connaît ni la grandeur des échanges nutritifs, ni la perméabilité de la carapace dans sa partie épaisse et dans sa partie mince; il n'est donc pas autorisé à nier, par une simple opération de pourcentage, le rôle des ponctuations de la carapace et à en tirer la conclusion que ce sont des trous livrant passage au protoplasme.

Je me hâte d'ajouter que Schütt a essayé de montrer directement l'existence du protoplasme extramembraneux; si les résultats qu'il publie avaient eu le degré de certitude qu'il leur attribue, il ne se serait pas égaré dans les longues digressions qui les entourent. Deux séries d'observations sont invoquées par l'auteur en faveur de sa thèse : 1° l'existence de quelques amas irréguliers et tout à fait localisés en un point de la surface de la cuirasse chez Podolampas (2) ; 2° des traînées de granulations très irrégulières chez des organismes vivants et observées au moyen du violet de gentiane.

Ces observations ne paraissent pas avoir de valeur démonstrative. Si le protoplasme sort en partie de la carapace pour recrépir et orner en quelque sorte celle-ci, ce ne peut pas être à l'état d'amas irréguliers ni de filaments grêles, mais à l'état de couche continue; or Schütt n'a rien démontré sur ce point. Quant aux observations faites avec le violet de gentiane, tous ceux qui ont employé cette matière colorante savent qu'elle ne possède pas, en solution aqueuse, d'élection particulière; elle se fixe sur tous les corps, même sur le verre lorsqu'il a été incomplètement lavé. D'autre part, j'ai fait remarquer plus haut (page 589) que l'eau de mer contient

(1) On pourra se convaincre, en lisant les pages 612 et suivantes, que je n'ai pas altéré l'argumentation de Schütt.

(2) *Loc. cit.*, pl. VIII, fig. 42.

Digitized by Google

toujours des substances mucilagineuses qui proviennent soit du mucus sécrété par les animaux, soit du mucilage produit par les membranes d'un certain nombre d'Algues ; ces substances mucilagineuses forment des cordons ou des masses qui se collent sur les organismes du plancton et y attachent des particules plasmiques en suspension dans l'eau. Sous l'action du violet de Gentiane, toutes ces impuretés sont colorées et ce sont elles qui représentent vraisemblablement ce que l'auteur a représenté comme des masses ou filaments protoplasmiques.

En tout cas j'ai essayé bien souvent de mettre en évidence, au moyen des procédés de fixation et de coloration les plus sensibles, le protoplasme extramembraneux, je n'ai jamais réussi à l'apercevoir chez les Péridiniens.

En ce qui concerne les Diatomées, Schütt n'est pas plus explicite ; on lit en effet dans la partie de l'ouvrage d'Engler et Prantl consacrée aux Diatomées et rédigée par lui (1) :

« D'ailleurs la membrane est distinguée par un système de lignes, de points, de cercles, de polygones. Les dessins sont engendrés par un épaississement inégal centrifuge, rarement centripète. La membrane se compose d'une très fine lamelle fondamentale sur laquelle se sont déposés vers l'extérieur des épaississements en forme de bandelettes qui, par leur arrangement, produisent les dessins. »

Quels sont les faits qui autorisent l'auteur à affirmer que la membrane se compose d'une fine lamelle fondamentale sur laquelle se sont déposées, à l'extérieur, des bandelettes. On chercherait vainement, soit dans les travaux de Schütt, soit dans les travaux contemporains, la justification de ces affirmations.

Quant à la démonstration de la présence du protoplasme extramembraneux chez les Diatomées, Schütt n'a pas été plus heureux que chez les Péridiniens. Pour affirmer l'existence de ce phénomène auquel l'auteur accorde une importance si générale, il n'a réussi à trouver qu'un seul exemple : le *Cyclotella socialis* où le protoplasme extramembraneux (2) est représenté sous l'aspect de masses plus ou moins spumeuses étalées entre

(1) Engler und Prantl, Die Bacillariaceen, 1896, p. 39-40.
(2) Schütt, Pringsh. Jahr., T. XXXIII, pl. VII, fig.23-25.

Digitized by Google

les individus de la colonie, ces derniers étant en outre couverts de pustules irrégulières représentant les masses plasmiques excrétées par les pores et plus ou moins confluentes à la surface externe des valves.

Schütt n'a pas osé tirer de la préparation qu'il a représentée toutes les conséquences qu'elle comporte. Non seulement le protoplasme s'échapperait de chaque cellule, mais les masses protoplasmiques se fusionneraient en un symplaste englobant les divers individus, et les Diatomées nous apparaîtraient, ou tout au moins le *Cyclotella socialis*, comme un myxomycète à chromatophores! On pourrait encore considérer cette préparation comme le dessin d'une amibe ayant captivé 3 *Cyclotella!* La figure 1, où j'ai reproduit exactement le dessin de Schütt, montre que je n'exagère pas en lui donnant la signification que l'auteur n'a pas voulu formuler.

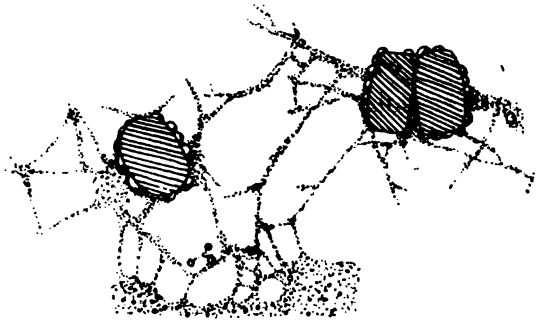


Fig. 1. — *Cyclotella socialis* avec le protoplasme extramembreux. (Reproduction de la figure de Schütt.)

Quand j'ai pris connaissance pour la première fois des hypothèses ingénieuses émises par Schütt, l'autorité de son nom, établie par des travaux de la plus grande valeur, m'avait ébranlé. Une observation faite sur du plancton recueilli aux environs de Banyuls m'a permis d'expliquer d'une façon plus simple les formations singulières figurées chez le *Cyclotella socialis*.

Le plancton de Banyuls était très riche en *Bacteriastrum delicatulum*. Les colonies de cette espèce présentaient une apparence spéciale : chaque couronne d'épines bifurquées était enveloppée d'une masse granuleuse (fig. 2) se colorant plus ou moins fortement par l'hématoxyline et constitué par une gelée hyaline emprisonnant un nombre considérable de granulations. Cette masse à bords plus ou moins nettement définis, creusée

Digitized by Google

çà et là de vacuoles, se montrait tout à fait semblable à une masse protoplasmique.

Je croyais avoir pris sur le vif un exemple du protoplasme extramembraneux et j'étais préparé à confirmer les vues

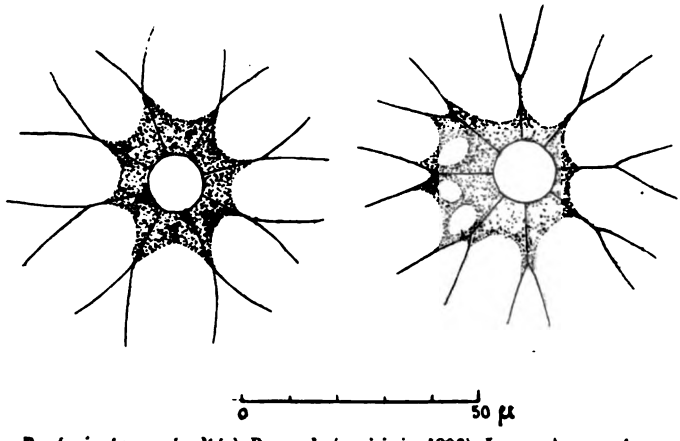


Fig. 2. — *Bacteriastrum* récolté à Banyuls (mai-juin 1906). Les cornes sont recouvertes de masses gélatineuses et plasmiques, flottant dans la mer ou excrétées par les individus et ultérieurement coagulées et colorées par l'hématoxyline.

ingénieuses de l'auteur, lorsque je me suis aperçu, par un examen plus attentif, que ce pseudo-protoplasme n'existait pas sur tous les exemplaires et représentait seulement une substance mucilagineuse englobant les particules en suspension dans l'eau. J'ai revu ces dépôts en plus ou moins grande abondance chez diverses espèces de Diatomées et j'ai même conservé une pêche planctonique d'Arcachon (Voy. p. 189) où le dépôt obtenu par précipitation sous l'influence de l'alcool, était exclusivement formé par des amas gélatineux entremêlés de granulations amorphes.

La présence constante de ces matières gélatineuses dans l'eau de la mer, leur coloration facile par le violet de gentiane auraient dû attirer l'attention de Schütt, d'autant plus que ces amas se produisent fréquemment sur les corpuscules minéraux, grains de quartz ou autres, mélangés au plancton.

Tant que Schütt n'aura pas distingué, par des réactifs appropriés, ces masses mucilagineuses de ce qu'il figure chez le *Cyclotella socialis* comme protoplasme extramembraneux, le doute sera permis et l'on ne pourra s'empêcher de penser que l'auteur

Digitized by Google

a confondu le protoplasme avec les impuretés renfermées dans l'eau de mer ou dans l'eau douce.

D'ailleurs les idées de l'auteur n'ont pas été adoptées sans protestations. Bruno Schröder (1) écrit au sujet du *Cyclotella socialis :* « ...Aussi ne puis-je accepter l'idée d'un plasma extramembraneux chez *Cyclotella socialis,* puisque la preuve de la constitution plasmatique de ces formations extracellulaires ne me paraît pas établie et que celles-ci, malgré les explications de Schütt, peuvent être aussi bien des formations mucilagineuses que des formations plasmiques. »

G. Karsten (2), dont le nom fait justement autorité dans l'étude des Diatomées du plancton, n'accepte pas non plus les idées émises par Schütt ; ses critiques portent seulement sur les Diatomées. A propos des *Cyclotella socialis*, il écrit : « En résumé, l'idée acceptée jusqu'à présent que des formations de ce genre (celles décrites par Schütt) paraissent être des formations plus ou moins gélatineuses excrétées à travers les pores, n'est en contradiction avec aucun des faits connus. L'hypothèse d'un plasma extramembraneux est en conséquence employée ici sans nécessité urgente. »

Karsten fait remarquer encore que si réellement la présence d'un plasma extramembraneux capable de former la membrane était nécessaire, son activité devrait se manifester là où les transformations de la membrane sont les plus importantes, c'est-à-dire au moment du développement des auxospores.

Schütt (3) répond, dans un nouveau mémoire, que la formation des auxospores n'est pas un bon exemple pour l'accroissement centrifugal, et il ajoute : « Erst muss eine Membran da sein, bevor ein extramembranöser Körper entstehen kann; es ist also die Ausscheidung einer Membran geradezu die logische Voraussetzung für das auftreten von extramembranösen Plasma. »

On conviendra que voilà un protoplasme bien singulier! Par

(1) Bruno Schröder, *Untersuchungen über Gallertbildungen des Algen* mit Tafel. VI und VII. — *Verhandlungen des Naturhistorisch medicinischen Vereins zu Heidelberg*. Nouvelle suite, t. VII, p. 139.

(2) G. Karsten, Bot. Zeit., t. LVII, p. 329, 1899.

(3) F. Schütt, *Centrifugale und simultane Membran Verdickungen* (Pringsheim Jahrb. f. Wissensch. Bot., Bd XXXV, p. 470).

Digitized by Google

la division répétée des cellules qu'il forme, il produit un certain nombre de générations protégées par des valves de plus en plus petites et, bien qu'il sorte en partie par les pores de ces valves de manière à les crépir et à les orner, il n'est pas capable d'empêcher la diminution de grandeur des valves. Cette diminution devient cependant une telle gêne pour lui qu'il est obligé de s'évader des valves les plus petites pour grandir en toute liberté et excréter à sa surface des valves plus grandes. Il y a là, dans la nécessité de la formation des auxospores, une contradiction trop flagrante avec la prétendue formation de plasma extramembraneux pour qu'elle ait échappé à un esprit aussi sagace que Schütt.

Dans le nouveau travail qu'il consacre au protoplasme extramembraneux, on pouvait espérer que l'auteur répondrait victorieusement à ses contradicteurs par la description de nouveaux exemples plus probants de l'existence de ce protoplasme ; il n'en est rien, et le *Cyclotella socialis* demeure, chez les Diatomées, l'unique observation autour de laquelle gravitent les considérations spéculatives sur les fonctions importantes de ce protoplasme. Schütt considère les preuves qu'il en a fournies comme suffisantes. Dans un très intéressant mémoire consacré à l'étude de la membrane chez les *Ornithocercus* (1), il annonce cela comme un fait acquis : « J'ai directement observé le plasma externe dans un certain nombre de cas. Pour les autres cas j'ai rendu son existence au moins vraisemblable et je conclus par pure analogie que là où, d'après les conditions précédemment exposées, l'emploi de l'hypothèse sur la croissance centrifugale paraît se présenter, le plasma externe existe réellement, par conséquent dans tous les cas où, jusqu'à présent, il n'a pu être mis en évidence. »

« Il n'y a pas lieu actuellement de se prononcer sur la question de savoir comment ce plasma exerce son activité, soit sous la forme d'un revêtement régulier, soit sous la forme de pseudopodes, soit enfin sous toute autre forme. »

Nous regrettons de ne pas partager l'idée de l'auteur sur ce dernier point, la connaissance de la forme sous laquelle le

(1) F. Schütt, *Die Erklärung des centrifugalen Diekenwachsthums der Membran* Bot. Zeit., Bd LVIII, 1900, II, Abth., p. 245).

Digitized by Google

plasma externe exerce son activité est la condition suffisante mais nécessaire, pour que l'hypothèse ingénieuse de la croissance centrifuge provoquée par le protoplasme externe sorte du domaine spéculatif pour entrer dans le domaine des faits.

III

MÉTHODES DE COLORATION DE LA MEMBRANE CHEZ LES DIATOMÉES

La partie organique de la membrane étant, comme je l'ai établi plus haut, constituée par des composés pectiques, les colorants basiques ont un pouvoir électif plus ou moins grand et peuvent servir pour l'étude, à la condition de les employer dans un milieu neutre ou additionné d'acide borique. D'ailleurs beaucoup d'auteurs ont employé avec succès, mais sans savoir pourquoi, la safranine, le bleu de méthylène, l'hématoxyline.

La plupart de ces colorants ont une affinité assez faible pour la membrane, de plus leur solubilité dans l'alcool ne permet pas d'obtenir des préparations durables par inclusion dans le baume.

Aussi me suis-je attaché à chercher parmi les matières colorantes, celles dont l'affinité élective est la plus forte et qui sont insolubles ou peu solubles dans l'alcool; le rouge de ruthénium et l'hématoxyline alunée *vieille* m'ont donné jusqu'ici les meilleurs résultats (1).

Le rouge de ruthénium s'emploie en solution aqueuse et on peut le préparer instantanément.

L'hématoxyline alunée doit être préparée depuis cinq ou six mois au moins car, lorsque cette solution est fraîche, son action élective pour les composés pectiques est presque nulle. Tous les aluns ne conviennent pas également; ceux qui m'ont fourni les meilleurs résultats sont l'alun ammoniacal et l'alun de rubidium. les aluns de potassium, de sodium et de chrome donnent des résultats moins constants. La préparation a lieu suivant la

(1) Schütt a bien employé l'hématoxyline pour colorer les Diatomées, mais il n'a pas précisé la nature des substances pour lesquelles elle a une grande affinité.

Digitized by Google

formule connue de Delafield; mais, et j'insiste surtout sur ce point, la condition de la réussite est d'employer une solution vieille.

Pour éviter une perte de temps, j'ai essayé de faire vieillir la solution par l'action de la chaleur. A la température de 100° au bain-marie, avec réfrigérant descendant, j'ai obtenu un vieillissement marqué. A une température plus élevée, à l'autoclave à 120°, le liquide est altéré et a perdu son action élective sur la membrane.

1° *Coloration des Diatomées à l'état frais.* — Si l'étude des Diatomées de fond est relativement aisée, même sur des exemplaires traités par les acides et calcinés, il n'en est pas de même pour les Diatomées du plancton, très fragiles et pourvues de cornes ou de prolongements qui se brisent ou se détachent avec la plus grande facilité.

Il est donc nécessaire de pouvoir observer ces organismes délicats sans les briser, dans le sédiment obtenu par l'alcool.

Lorsqu'on vient de procéder à une pêche planctonique et de traiter par les fixateurs, acide chromique, fixateur de Zenker, etc., la partie de la récolte destinée à faire connaître la structure interne, ce qui reste est précipité par l'alcool et, après précipitation, conservé dans l'alcool fort jusqu'au moment de l'étude ou examiné immédiatement.

Quelques gouttes du précipité, un ou deux centimètres cubes sont lavés à l'eau. Comme il est impossible de centrifuger les Diatomées du plancton, on lave le précipité sur de petits tamis de soie à bluter de la trame la plus fine, puis on délaie la boue lavée dans une solution de vanadate d'ammoniaque à 1 p. 100. Après vingt-quatre heures de séjour on lave avec grand soin à l'eau distillée pour enlever les dernières traces de vanadate d'ammoniaque et on ajoute, au dépôt lavé, l'hématoxyline alunée (à l'alun de rubidium ou à l'alun d'ammoniaque) ; on laisse en contact pendant vingt-quatre heures.

Au bout de ce temps on lave le dépôt à l'eau, puis à l'alcool et, après déshydratation, on l'additionne d'essence de girofle ou d'un autre médium. Il ne reste plus qu'à monter une partie du précipité dans le baume de Canada. Si le procédé opéra-

Digitized by Google

toire est un peu long, on est récompensé du temps perdu par la beauté des préparations où les moindres détails sont mis en relief de manière que les relations des individus d'une colonie deviennent très claires.

Toutefois, comme la trame silicifiée délicate est souvent masquée par la membrane anhiste externe, les détails de cette trame n'apparaissent pas toujours avec une grande netteté; par contre, les moindres ornements de la surface, les filaments qui réunissent les divers individus d'une colonie ou qui rayonnent de chaque individu sont très visibles. Nous verrons plus loin des exemples de ces productions jusqu'alors insoupçonnées ou imparfaitement décrites. Comme le contenu des cellules plus ou moins conservé est toujours fortement coloré, il gêne parfois l'observation de certains détails de structure.

Néanmoins ce procédé de coloration est indispensable pour faire une analyse rapide et précise du plancton.

2° *Coloration des Diatomées après destruction du contenu et dissociation de la substance organosilicique de la membrane.* — Le procédé opératoire est un peu différent suivant que l'on a affaire à des Diatomées de fond ou à des Diatomées planctoniques.

Pour les premières, le dépôt sec ou conservé dans l'alcool est traité par de l'acide chlorhydrique fumant étendu du tiers de son volume d'eau et additionné de cristaux de chlorate de potassium. Après vingt-quatre heures le dépôt est lavé par centrifugation, à l'eau d'abord, puis ensuite à l'alcool ; on le laisse alors macérer pendant vingt-quatre heures dans une solution alcoolique sirupeuse de potasse alcoolique, on lave le dépôt à l'alcool, puis à l'eau et dans une solution d'acide borique à 3 p. 100 pour faire disparaître les dernières traces d'alcali. On peut alors colorer le dépôt blanc ainsi obtenu soit à l'hématoxyline alunée comme il a été dit plus haut, soit au rouge de ruthénium Dans ce dernier cas le dépôt est additionné d'une solution aqueuse de rouge de ruthénium, agité de temps en temps pour obtenir une coloration uniforme de toute la masse; au bout de deux ou trois heures le dépôt est lavé à l'eau, puis

Digitized by Google

à l'alcool et enfin conservé dans l'essence de girofle pour être monté au baume (1).

Lorsque l'on veut étudier la structure intime des Diatomées du plancton, la délicatesse des membranes, conséquence de leur faible silicification, ne permet pas d'employer l'acide chlorhydrique et le chlorate de potassium. Voici comment on procède : le sédiment renfermant les Diatomées du plancton est mélangé à une dissolution d'hypochlorite de potassium et séjourne dans cette dissolution (1 centimètre cube du sédiment conservé dans l'alcool pour 20 ou 30 centimètres cubes d'hypochlorite) une demi-heure environ ; on étend le mélange d'un grand volume d'eau et on laisse déposer, puis le dépôt décanté est repris par l'alcool et ramené par décantation à 1 ou 2 centimètres cubes et additionné de potasse alcoolique sirupeuse qu'on laisse agir pendant dix à douze heures. On lave à l'alcool d'abord pour enlever la plus grande quantité de potasse, puis à l'eau distillée et on neutralise par l'acide borique en solution aqueuse à 3 p. 100. Le dépôt obtenu est prêt à être coloré par l'hématoxyline ou le rouge de ruthénium. On peut monter ensuite dans la glycérine aqueuse ou dans le baume après déshydratation.

Dans les préparations obtenues ainsi, la plus grande partie de la silice a été enlevée et les membranes devenues très molles sont souvent fripées ; les cordons qui réunissent en colonies les *Thalassiosira* sont dissous et les colonies sont dissociées, ainsi d'ailleurs que les colonies de *Chætoceros* ; par suite, ces préparations ne sont jamais aussi démonstratives pour la détermination des espèces que le procédé de coloration à l'état frais, mais elles fournissent, sur la structure des valves, des détails qu'on ne saurait observer par aucune autre méthode, même par le procédé de calcination ; elles permettent ainsi de préciser et de rectifier la diagnose d'un certain nombre d'espèces, comme on le verra dans la partie qu'il me reste à traiter. Toutefois je ne dois pas cacher que le procédé opératoire est toujours délicat : si le séjour dans l'hypochlorite est trop

(1) Il ne faut jamais employer le baume dissous dans le chloroforme pour la coloration au rouge de ruthénium, parce que le baume devient acide et décolore les préparations ; c'est le baume au xylol qu'on doit préférer.

Digitized by Google

long, la presque totalité des membranes est détruite; s'il est trop court, la coloration ne se produit pas, la dissociation de la combinaison de silice et de matière organique n'ayant pas eu lieu.

IV

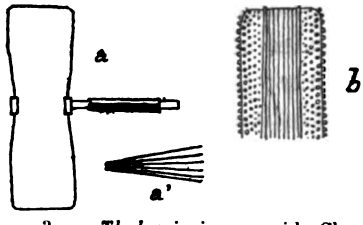
APPLICATION A L'ÉTUDE DE QUELQUES ESPÈCES PLANCTONIQUES

Thalassiosira gravida Cl.

1896. Cleve, 1897. — Gran, p. 28, t. IV, f. 57-58. — 1904. Paulsen. Plankton-investigations in the Waters round Iceland. Copenhague, 1904.

Cette espèce, créée par Cleve (1), se présente souvent en mélange avec le *Th. Nordenskiöldii*. La description de Cleve passe sous silence des détails de structure que j'ai eu l'occasion d'observer. « ... Les valves, presque plates, présentent de nombreuses épines étroites auprès de la marge... », elles sont réunies par un fil central muqueux.

Le cordon central est en réalité un faisceau de filaments muqueux extrêmement fins qui sont insérés au centre des valves : l'insertion est marquée par un groupe de ponctuations déjà figuré par Cleve. Les filaments sont enveloppés d'une gaine très fine que l'on aperçoit en traitant les colonies par l'acide iodhydrique iodé; dans ce réactif la gaine prend une teinte faible brun violacé et donne ainsi la réaction de la cellulose. C'est le seul exemple que je connaisse chez les Diatomées.



3. — *Thalassiosira gravida* Cl. — *a*, cellule vue de profil montrant l'insertion du faisceau muqueux avec sa gaine; *a'*, faisceau muqueux dissocié; *b*, fragment de cellule vue de profil montrant les ornements et les mamelons qui couvrent les faces.

Quand le réactif agit pendant un certain temps, la gaine qui unit les filaments muqueux se déchire et ceux-ci s'éparpillent comme un faisceau d'aiguilles (fig. 3). D'autre part, dans l'hématoxyline vieille, le faisceau muqueux est fortement coloré en violet, sauf au niveau de l'insertion sur la face centrale

(1) Cleve P. T., *Diatoms from Baffins bay and Davis Strait collected by M. E. Nilsson and examined by Cleve*, p. 12, 1896. — *Bihang, till. K. Swenska vel. Akad Handlingar*, T. XXII, Afd. III, n° 4.

Digitized by Google

des valves ; en ce point les valves sont toujours excavées.

L'insertion du faisceau de cordons muqueux qui réunissent les individus en chaîne est garnie d'un petit disque qui produit exactement l'impression d'un écrou maintenant une tige.

Quant aux valves, elles sont couvertes de ponctuations plus

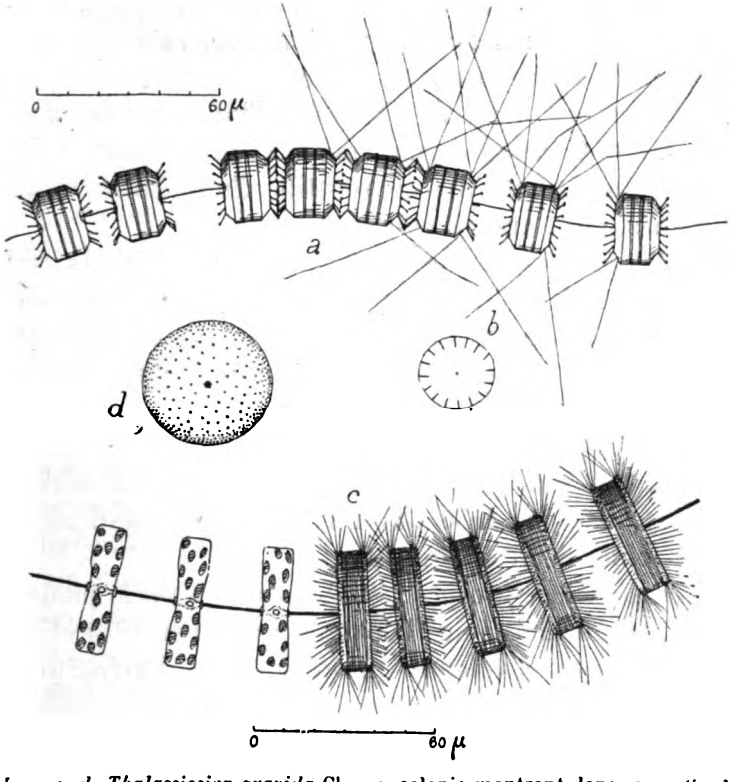


Fig. 4. — *c, d, Thalassiosira gravida* Cl. — *c*, colonie montrant dans sa partie droite des filaments muqueux qui hérissent les faces des individus ; *d*, une des valves vue de face montrant la disposition des ponctuations ; *a, b, Thalassiosira Nordenskiöldii* Cl. *a*, une colonie montrant les fins filaments qui hérissent les valves ; *b*, un individu vu de face.

ou moins saillantes, le plus souvent arrondies et jamais épineuses comme le fait croire la description de Cleve ; toutefois lorsque les filaments muqueux dont il est parlé plus bas, ont disparu, leur base persiste sous l'aspect d'un petit mamelon saillant (fig. 3 *b*). Les ponctuations, très nombreuses et serrées à la périphérie, sont de plus en plus espacées vers le centre sauf au niveau de l'insertion du connectif muqueux.

Les faces sagittales ne sont pas unies, elles présentent, un

Digitized by Google

peu en dedans des bords arrondis des valves, un cordon saillant puis une série de bandes très fines et très serrées.

Le trait le plus saillant, méconnu par Cleve et que Gran (1) a entrevu, consiste dans la présence d'un nombre considérable de filaments muqueux insérés sur les ponctuations et dont la longueur atteint et dépasse la longueur des valves (fig. 4, *c*). Sur les bords, ces filaments rectilignes sont dispersés en éventail et divergent de manière que les filaments de l'une des valves viennent croiser ceux de l'autre valve; sur les faces ces filaments sont dressés perpendiculairement aux valves et lorsque les deux individus consécutifs d'une chaîne sont trop rapprochés, les filaments se croisent.

Vues de profil les colonies de *Thalassiosira gravida* ressemblent assez à une série de brosses plates à double face qui seraient enfilées les unes à la suite des autres ; vu de face, chaque individu forme un disque entouré d'un cercle de rayons divergents.

Les filaments qui constituent ces rayons ou ces soies, quoique rectilignes, ne sont pas rigides ; quand ils disparaissent, on ne voit plus que leur base qui forme les ponctuations ou les pseudo-épines décrites par Cleve.

J'ai rencontré cette espèce en abondance dans le plancton de Saint-Vaast, mélangée au *Th. Nordenskiöldii* en 1907 et en 1908 depuis le mois d'octobre jusqu'au mois d'avril, avec un maximum en mars.

Thalassiosira Nordenskiöldii Cl.

1873. Cleve, On Diatoms from the Artic Sea. Stockolm, p. 6, t. II. — Van Heurck, Synoptis, 1883. — Gran, Protophyta. Den Norske Nordhavs Expedition 1877-1878. — Vanhöffen, Grönland Expéd. der Gesells. f. Erdkunde z. Berlin, 1897.

Cette espèce, créée par Cleve, se rencontre en abondance et souvent en mélange avec l'espèce précédente *Th. gravida* Cl., elle s'en distingue par la plus petite dimension des individus, réunis en chaîne par un filament muqueux.

Les individus de chaque colonie sont toujours trapus, circulaires vus de face et présentant, vus de côté, un contour rectangu-

(1) H.-H. Gran, *Nordisches Plankton Dritte Lieferung*, XIX, *Diatomeen*, p. 18, fig. 12.

Digitized by Google

laire flanqué de deux faces en biseau, la largeur du biseau étant le 1/5 ou le 1/4 de la largeur totale ; le contour est en somme un octogone allongé irrégulier. Sur les bords de chaque valve, au niveau de la face interne du biseau, on observe une rangée d'épines au nombre de 15 à 18, obliquement insérées et terminées par une surface irrégulière située au niveau de la surface cylindrique d'emboîtement des valves.

Le filament muqueux qui réunit les individus en une colonie est toujours très étroit, simple et flexible, contrairement à ce qui se passe pour le *Thalassiosira gravida*. Enfin le biseau circulaire des bords de chaque valve laisse échapper des aiguilles extrêmement fines dirigées en dehors, orientées en divers sens et dont la longueur atteint le double ou le triple du diamètre des valves (fig. 4, *a*) ; ces aiguilles délicates paraissent silicifiées et en tout cas rappellent exactement des fils de verres très minces, car dans chaque préparation on voit que quelques-unes d'entre elles sont nettement cassées et forment alors des lignes droites brisées. Cet aspect, qui démontre la rigidité de ces aiguilles, nous fait voir en même temps qu'une substance organique flexible maintient adhérents les deux segments au niveau de la cassure ; la finesse de ces aiguilles ne m'a pas permis d'en examiner la structure. D'autre part, quand on soumet les colonies de *Th. Nordenskiöldii* à l'action consécutive de l'hypochlorite de potassium et de la potasse, les individus sont dissociés par suite de la dissolution du filament mu-

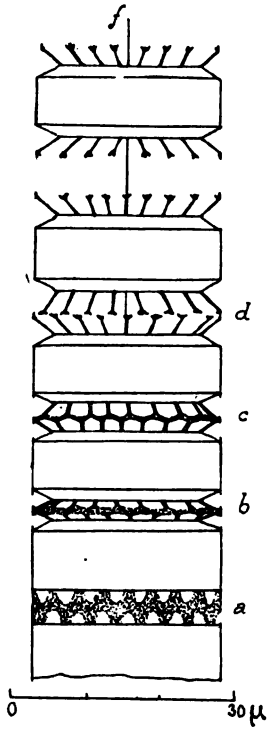


Fig. 5. — Colonie de *Thalassiosira Nordenskiöldii*. — *a*, deux individus encore réunis par les bords de la membrane de la cellule mère, déjà dissociée dans les parties claires ; *b* et *c*, le reste de la membrane de la cellule mère est représenté par la bande pointillée en zig-zag adhérente aux extrémités des épines ; *d*, le résidu de la membrane de la cellule mère a été rompu en un grand nombre de petites plaques irrégulières, soudées aux extrémités des épines.

Digitized by Google

queux qui les réunissait et les aiguilles délicates ont disparu.

J'ai pu suivre sur des échantillons récoltés en mars 1907 puis en mars 1908 le mode de séparation des individus.

Lorsque chacune des cellules filles s'est individualisée après la division, la membrane de la cellule mère est d'abord conservée entre deux cellules sœurs, et les épines divergentes sont déjà constituées de manière à venir souder leurs extrémités sur la face interne de la paroi de la cellule mère (fig. 5, *a*). Celle-ci ne tarde pas à se dissocier par places dans les intervalles des extrémités des épines et les bords des valves des deux cellules sœurs demeurent réunis par un ruban découpé en zig-zag ; puis la membrane des cellules mères se détache ou se résorbe et il n'en reste bientôt qu'un fragment continu sous l'aspect d'une bande plus ou moins découpée en zig-zag, qui réunit les extrémités des épines (fig. 5, *b*, *c*). Bientôt enfin, par les progrès de la croissance, cette bande se fragmente entre deux épines consécutives, ne laissant plus qu'un fragment plus ou moins régulier adhérent à l'extrémité de chaque épine. A ce moment les cellules filles sont entièrement individualisées et le cordon muqueux anhiste s'allonge peu à peu pour donner aux individus de la colonie leur écartement normal.

Le *Thalassiosira Nordenskiöldii* présente, on le voit, des différences de structure nouvelles et très nettes qui le distinguent du *Th. gravida*.

Cette espèce présente dans la rade de Saint-Vaast-la-Hougue une distribution analogue à celle du *Th. gravida*, quoique moins étendue dans le temps, avec un maximum d'extension en mars, au commencement du mois (1907-1908).

Genre **Chætoceros**.

Les espèces du genre *Chætoceros* sont décrites comme composées de deux valves formées chacune d'une valve proprement dite et d'une ceinture, les anneaux intercalaires manquent ordinairement, au moins dans les espèces du Nord.

Vu par les faces sagittales, chaque individu se compose d'une zone médiane cylindrique, de part et d'autre de laquelle sont placées les régions terminales portant les cornes; tantôt la bande médiane est séparée des régions terminales par un léger

Digitized by Google

étranglement, tantôt cette ligne de démarcation n'est pas marquée.

L'absence d'anneaux intercalaires est considérée comme si constante pour le genre *Chætoceros*, que Schütt (1) a pu créer pour une espèce trouvée dans la mer Baltique un genre spécial, le genre *Peragallia*, caractérisé par la présence de nombreux anneaux auxiliaires dans les cellules longuement cylindriques des *P. meridiana*. Ce genre très voisin d'*Altheya* constituerait, d'après Schütt, un type de transition entre les Rhizosoléniées et les Chætocérées.

Les observations que j'ai pu faire chez un certain nombre de *Chætoceros* de la Manche et de l'Atlantique montrent que la distinction proposée par Schütt ne saurait être admise. Un certain nombre de *Chætoceros*, notamment le *Chætoceros teres*, le *Ch. Lorenzianum*, sont formés de cellules plus ou moins longuement cylindriques qui présentent des anneaux intercalaires donnant à chaque cellule une structure annelée très nette. Cette structure n'est pas visible sur les échantillons frais ou conservés dans l'alcool et colorés par l'hématoxyline ; elle n'a pas été davantage observée sur les échantillons calcinés. Elle n'est visible que sur les préparations colorées au rouge de ruthénium ou à l'hématoxyline après l'action de l'hypochlorite de potassium et de la potasse caustique en solution alcoolique.

Chez *Ch. teres* (fig. 6, *d*), les anneaux intercalaires (Zwischenbandern) sont très étroits, uniformément espacés et alternent très irrégulièrement entre eux par des lignes de suture effilées qui occupent des génératrices différentes ; chez *Ch. Lorenzianum* les anneaux intercalaires présentent les lignes de suture moins effilées rappelant exactement ce que Schütt a décrit pour le *Peragallia meridiana*, mais ces anneaux ne sont pas de largeur uniforme et ils prennent parfois l'aspect des écailles plus ou moins cylindriques des Rhizosoléniées.

La présence de ces anneaux intercalaires nous autorise-t-elle, en conservant le genre *Peragallia*, à y introduire les *Chætoceros teres*, *Lorenzianum* et un certain nombre d'autres espèces à

(1) F. Schütt, *Arten von Chætoceras und Peragallia ein Beitrag zur Hochseeflora* (Berichte der Deutschen Botanischen Gesellsch., Bd XIII, 1895, p. 35, Tafel IV und V).

Digitized by Google

valves longuement cylindriques? ou bien faut-il abandonner le genre *Peragallia* et faire rentrer l'espèce type sous le nom de *Chætoceros meridiana* dans le genre *Chætoceros*? Je pencherai volontiers pour cette dernière hypothèse en considérant que chez le *Chætoceros teres* par exemple, on trouve dans une même chaîne des individus longs et des individus courts ; chez ces derniers le nombre des anneaux intercalaires diminue beaucoup de sorte qu'on peut trouver dans une seule espèce des individus pourvus d'anneaux intercalaires et des individus dépourvus de ces formations.

Si ces faits sont confirmés par une étude plus complète des espèces du genre *Chætoceros* que j'ai entreprise, on devra se borner à distinguer dans le genre deux séries, celle des *Chætoceros annelés* et celle des *Chætoceros non annelés*, présentant entre elles des types de transition.

Le genre *Peragallia* devrait alors disparaître et l'espèce unique qu'il renferme serait placée dans la série des Ch. annelés sous le nom de *Ch. meridiana*, à côté de *Ch. teres*, *Ch. Lorenzianum*, etc.

Il est probable que *Ch. Weissflogii*, *Ch. Villei*, *Ch. pelagicum* rentrent dans le groupe des Ch. annelés.

En dehors de cette particularité de structure que la méthode de coloration nouvelle a permis de révéler, j'ai pu observer chez certaines espèces des détails de nature à préciser davantage la diagnose.

Chætoceros teres, Cl.

Cleve, Planktonundersökningar. Stockholm, 1896, t. XXII. — A. Treatise of the Phytoplankton of the Northern Atlantic and its Tributaries. Upsala, 1897. — Gran, Protophyta (Den Norske Nordhavs-Expedition, 1876-1878. Hefte 24.

Le *Ch. teres* trouvé en abondance dans le plancton de Saint-Vaast au mois de février et de mars, a présenté, avant de disparaître, la formation des spores durables. Ces spores durables sont décrites par tous les auteurs comme entièrement lisses et dépourvues des ornements plus ou moins fortement silicifiés que présentent celles des autres espèces. La coloration des

Digitized by Google

récoltes au moyen de l'hématoxyline alunée a permis de constater que cette description est inexacte. Toutes les spores de *Chætoceros teres* que j'ai observées présentent une couronne de filaments extrêmement fins et flexueux fixés sur la face cylindrique qui réunit les deux valves, ils paraissent sortir des ponc-

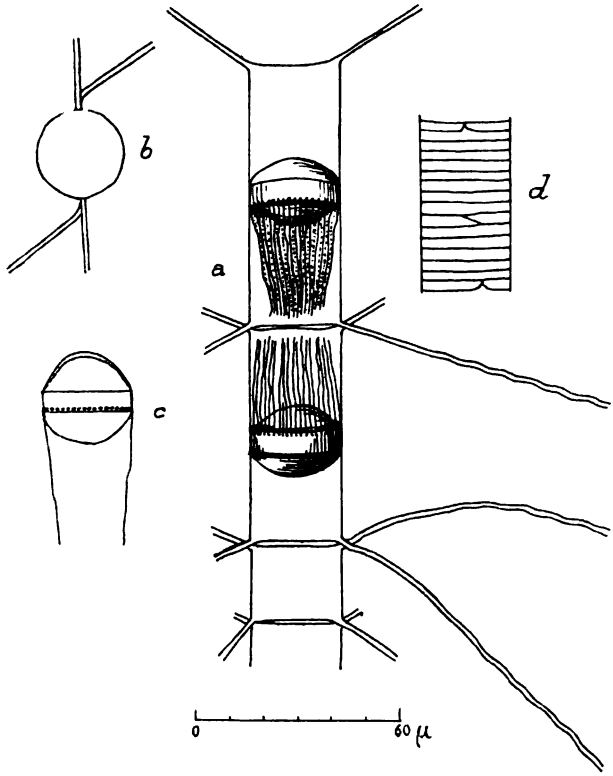


Fig. 6. — *Chætoceros teres* Cl. — *a*, fragment d'une colonie montrant les spores durables et les cornes ondulées ; *b*, section transversale d'un individu ; *c*, spore durable isolée montrant les ponctuations d'où sortent les filaments ; *d*, fragment d'individu montrant les anneaux intercalaires.

tuations très fines que présente le bord cylindrique le plus rapproché de la valve la moins épaisse (fig. 6, *a*, *b*). Ces filaments ont une longueur double du diamètre de la spore. Contrairement aux ornements déjà décrits, ces filaments ne sont pas silicifiés ou le sont très peu car ils disparaissent entièrement dans les spores mises en liberté par la dissociation des valves dans lesquelles ces spores se sont formées et après le traitement par les réactifs oxydants.

Digitized by Google

J'ajoute enfin que les cornes de cette espèce sont nettement ondulées dans leur moitié terminale.

En somme, par ses cellules garnies d'anneaux intercalaires nombreux, par ses spores durables pourvues d'une couronne de filaments flexibles, par ses cornes flexueuses, le *Ch. teres* constitue une espèce bien caractérisée.

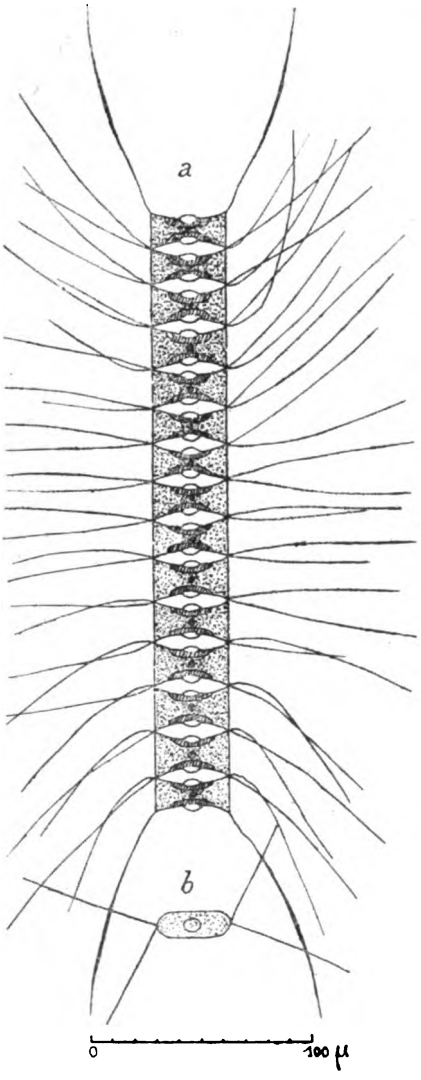


Fig. 7. — *a*, colonie de *Chætoceros didymum*; *b*, vue de travers.

Chætoceros Didymum.

Ehr. (*Ch. mamillarum* Cleve, p. 55, 1889 : *Ch. didymum* Cleve, Pelagiske Diatomeer fran Kattegat Planktenunder-Sökningar. Stockholm, p. 14, t. 1, fig. 3 et 4, 1894; *Ch. protuberans*, Schütt bei Apstein, 1901, p. 41, non Lauder).

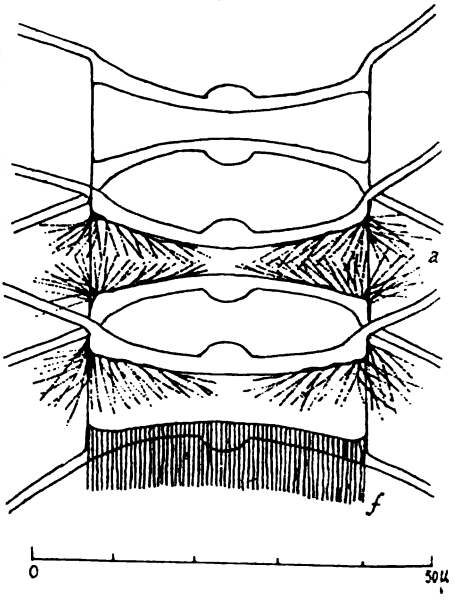


Fig. 8. — *Chætoceros didymum*. — Colonie vue parallèlement à l'axe apical montrant la frange terminale *f* et les filaments muqueux *a*.

Cette espèce, caractérisée par le renflement en forme de bou-

Digitized by Google

ton qui occupe les faces terminales des valves, présente des détails de structure déjà soupçonnés par Gran (1) ; « à l'insertion des soies on trouve souvent des filaments siliceux très minces disposés en éventail... ».

Ces filaments sont bien disposés en éventail comme le dit Gran, mais ils sont plus nombreux et rigides, ils sont disposés en grand nombre sur le tiers du contour extérieur de chaque valve. La plupart d'entre eux sont disposés en nombreuses ramifications sur un filament plus ou moins flexueux inséré au voisinage de l'attache des cornes et formant un cordon appliqué contre la paroi latérale des valves. Les rameaux rigides issus de ces filaments divergent ainsi vers l'extérieur aussi bien sur les faces latérales que sur la face d'où s'échappent les cornes ; très souvent ils sont bifurqués (fig. 7 et 8). Outre ces filaments, on aperçoit aussi sur les faces de la valve qui terminent une chaîne d'individus, un grand nombre de filaments parallèles entre eux et parallèles à l'axe de la chaîne, ils sont insérés le long de la ligne qui sépare la partie terminale des valves de la région médiane, leur longueur est d'environ 10 à 12 μ (fig. 7) ; ils sont semblables à la frange qui couvre les faces terminales des valves de *Bidulphia* au niveau des épines siliceuses.

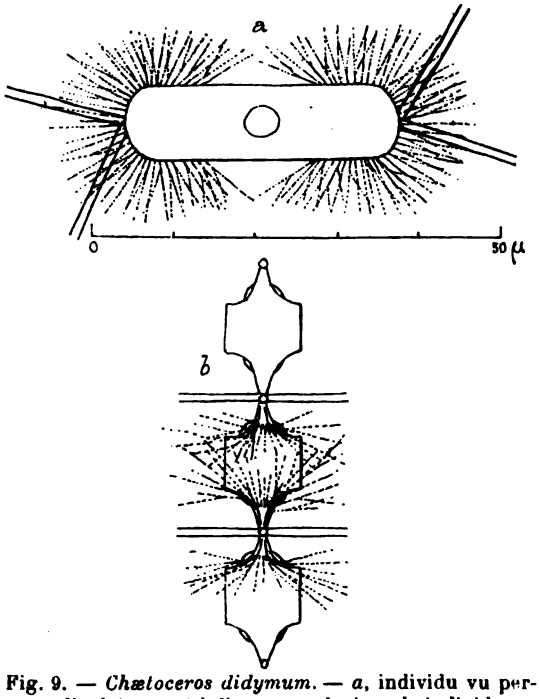


Fig. 9. — *Chætoceros didymum*. — *a*, individu vu perpendiculairement à l'axe pervalvaire ; *b*, individu vu parallèlement à l'axe transversal ; tous deux montrent la disposition des filaments muqueux.

(1) H. H. Gran, *Den norske nordhavs-expedition*, t. XXIV, *Botanik, Protophyta : Diatomaceae, Silicoflagellata og Cilioflagellata*, p. 16, pl. I, fig. 8.

Digitized by Google

Il semble que ces filaments soient peu ou point silicifiés et ils disparaissent entièrement après l'action de l'hypochlorite de potassium et celle de la potasse caustique ; on ne les observe bien nettement que sur les individus fixés par la coloration due à l'hématoxyline après l'action du vanadate d'ammonium.

Chætoceros sociale.

Lauder, On new Diatoms Trans. of the microsc. Society, vol. 12, 1864, p. 77, t. VIII, fig. 1 ; 1896. Cleve, p. 9, t. II, fig. 9 ; 1897. Gran, Protophyta Den Norske Nordhavs-Expedition 1876-1877, p. 26, t. IV, f. 54.

? *Chætoceros Wighami* Cleve et Greenow, 1880. Beiträge z. Kennt. d. arktischen Diatomsen Stockholm. *Chætoceros Lorenzianum* v. ? *parvula* Gran.

Cette espèce se distingue de toutes les autres par la masse mucilagineuse plus ou moins persistante qui enveloppe toute la colonie, par le mode d'union des individus dont les chaînes le plus souvent très courtes sont réunies par l'une des cornes extrêmement mince et longue.

Les échantillons que j'ai observés dans le plancton de Saint-Vaast à partir du mois d'octobre permettent de rectifier la description et les dessins de Cleve qui manquent de précision. Dans le dessin figuré par Cleve (1) la colonie paraît être formée par la ramification plusieurs fois répétée d'un filament dont les rameaux constituent l'une des cornes des individus.

D'autre part, Gran (2) décrit les colonies de *Chætoceros sociale* à « chaînes courbées groupées en grand nombre sous l'aspect de grandes colonies sphériques mucilagineuses et réunies soit par le mucilage, soit pas de très longues cornes qui, dans la colonie, sont feutrées ».

Le dessin qui accompagne cette description manque de netteté ; il tend à montrer que les cornes les plus longues n'ont pas une direction bien déterminée.

La description de Cleve est plus précise, mais elle laisse encore indécise la manière dont les chaînes sont réunies (3). « Les chaînes sont réunies d'une remarquable manière par une

(1) Cleve, *Diatoms brom Baffinsbay and Davis strait collected by M. M. Nelsson.* (Behang Till. k. Sveerska vet. akad. Handlingar, Bd XXII, Afd. 111, n° 4, fig. 9.)

(2) H. H. Gran, *Nordisches Plankton Dritte Lieferung*, t. XIX, *Diatomeen*, p. 96, fig. 123.

(3) Cleve, *loc. cit.*, p. 9.

Digitized by Google

barbe beaucoup plus longue que les autres. Les prolongements sont réunis par leurs extrémités de manière à former une masse intriquée comme un vrai mycélium. »

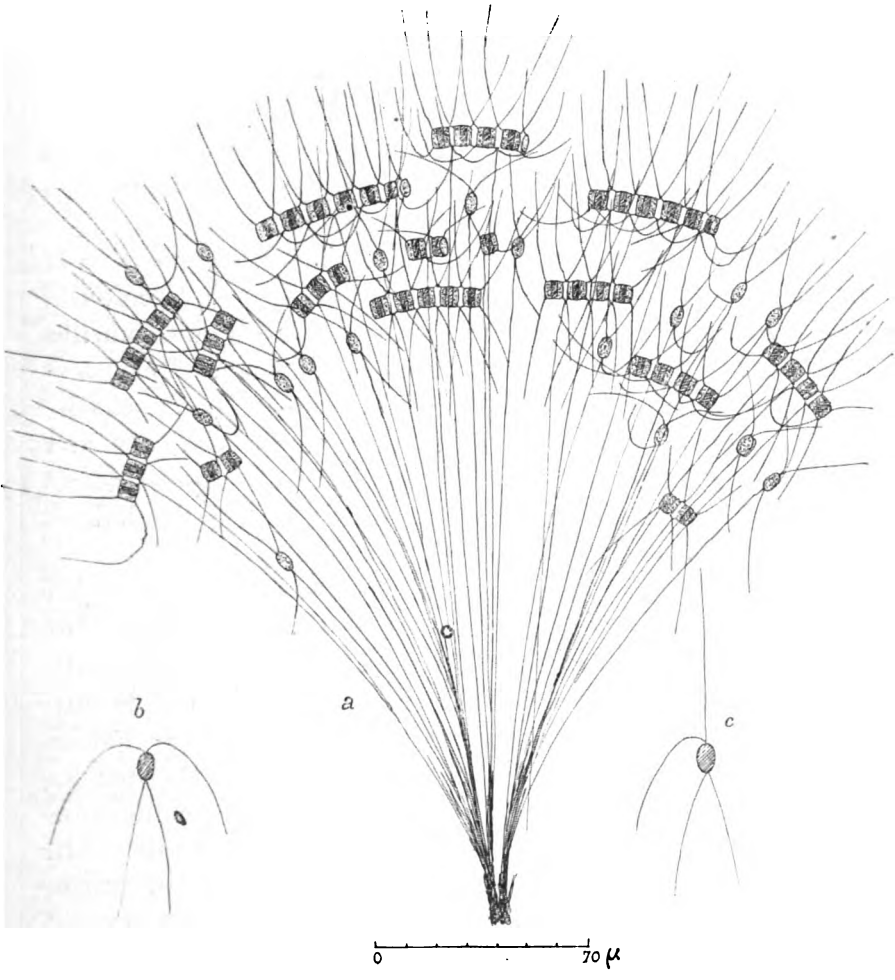


Fig. 10. — *Chætoceros sociale.* — *a*, fragment d'une colonie ; *b*, individu isolé avec ses cornes égales ; *c*, individu pourvu d'une longue corne servant à fixer la colonie au support.

Les colonies ont un aspect bien plus caractéristique que ne le font prévoir ces descriptions.

Chaque colonie présente au centre une masse irrégulière, filamenteuse ou non, fortement colorée par l'hématoxyline et par laquelle sont fixés les prolongements de chacune des

Digitized by Google

chaînes; ces prolongements ont 100 et 150 μ de longueur. il n'y en a ordinairement qu'un pour chaque chaîne, tantôt c'est l'une des cornes terminales, tantôt c'est l'une des cornes moyennes. Ces prolongements sont très serrés de manière à former par leurs extrémités soudées une masse plus ou moins longue, filamenteuse; ils divergent régulièrement sans jamais s'anastomoser entre eux, ils ne peuvent donc former une masse intriquée comme Cleve l'a prétendu. Si l'on observe parfois des filaments nitriques noyés dans la masse mucilagineuse. cela est dû à un accident de préparation (fig. 10).

En outre, les cornes courtes des individus de chaque chaîne sont très régulièrement dirigées vers l'extérieur de la colonie. les cornes externes divergeant sous un un angle aigu, les cornes internes immédiatement recourbées en dehors et très rarement transversales. Le nombre des individus de chaque chaîne dans la colonie est toujours réduit et répond à peu près aux indications données par Cleve. Le dessin de Gran représenterait plutôt une colonie dissociée, et le grand nombre des individus de chaque chaîne serait une exception.

Quand on traite le plancton qui renferme ces colonies par l'hématoxyline, le mucilage enveloppant la colonie est à peine coloré à cause de la quantité d'eau qu'il renferme; si le sédiment a été lavé à l'eau à plusieurs reprises, et décanté, le mucilage finit par disparaître mais les nombreuses petites chaînes dont se compose la colonie demeurent unies entre elles par les cornes rayonnantes, une seule ordinairement par chaîne, contrairement à ce qui résulte de la description de Gran. Pour obtenir la dissociation de la colonie et des chaînes, il faut traiter le plancton par l'hypochlorite de potassium et la potasse caustique. Cette dissociation est d'ailleurs la règle chez toutes les espèces de *Chætoceros* que j'ai examinées.

Genre **Bacteriastrum**.

Bacteriastrum varians Lauder. 1864. On new Diatoms Trans. of the microscopical Society, vol. 12, *v. borealis* Ostenf. 1901 lattagelser over Plankton-Diatomeer Kristiania.

Bacteriastrum delicatulum Cleve. Report on the Phytoplankton collected on the expedition of H. M. S. Research 1896. Edinburgh.

Ces deux espèces que j'ai rencontrées, la première à Saint-

Digitized by Google

Vaast en hiver, la seconde à Banyuls aux mois de mai et juin, présentent, comme on le sait, non plus deux cornes comme les *Chæteceros*, mais une série de cornes rayonnantes dont le nombre varie de 8 à 20.

Les individus jeunes chez lesquels la division n'a pas encore

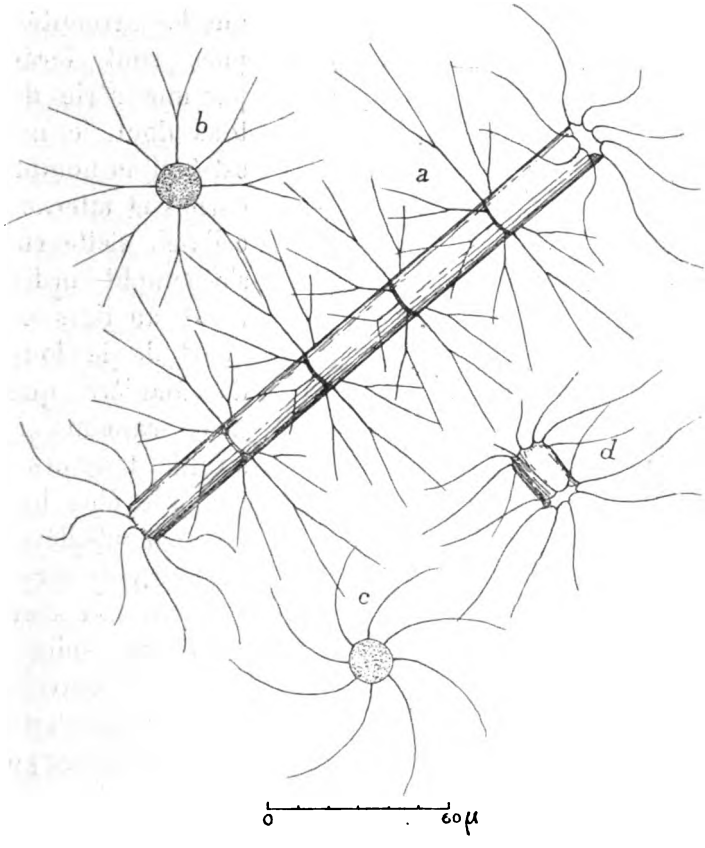


Fig. 11. — *Bacteriastrum varians.* — *a*, colonie vue de profil ; *b*, vue de la région de séparation de 2 individus ; *c*, vue de la partie terminale de chaque colonie ; *d*, individu isolé.

eu lieu se présentent sous l'aspect d'un cylindre à peine plus long que large et présentant les cornes divergentes simples, le plus souvent enroulées en spirale (fig. 11, *d*).

Lorque la division a eu lieu, les chaînes sont constituées par des individus plus ou moins nombreux dont les cornes rayonnantes intercalaires sont accolées deux à deux par la moitié de

Digitized by Google

leur longueur, puis se séparent en divergeant de manière à former une branche dichotomisée.

Tous ces individus présentent la particularité non signalée encore jusqu'ici, de se rompre suivant une ligne sinueuse, de sorte que les extrémités rompues sont terminées par une série de festons dont le nombre est égal au nombre des cornes et alterne avec celle-ci. Cette rupture s'accomplit ordinairement au tiers ou au quart de la longueur de manière que les deux segments séparés soient toujours inégaux; le plus long de ces segments développe une série de cornes divergentes et contournées en spirale et devient l'individu terminal d'une chaîne. Je n'ai pas encore pu déterminer le sort du segment réduit par la rupture au quart ou au tiers de la longueur normale (fig. 12, *a*, *b*, *d*).

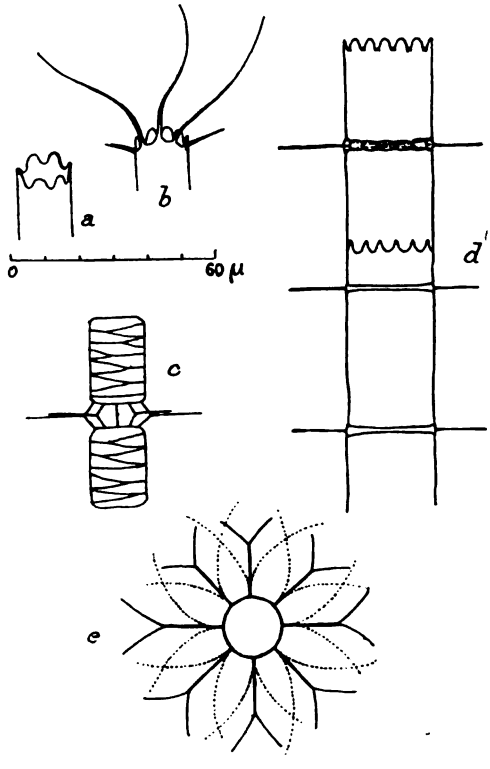


Fig. 12. — a, b, c, *Bacteriastrum delicatulum*. — *a*, individu brisé de manière à montrer le bord festonné de la ligne de rupture; *b*, individu ayant développé ses cornes terminales entre les festons; *c*, individu montrant les anneaux intercalaires. — d, *Bacteriastrum varians* avec l'indication des lignes de ruptures festonnées; *e*, surface de séparation de 2 individus. Les lignes pointillées indiquent la disposition que prendraient les cornes si elles étaient libres.

L'endroit où la rupture doit avoir lieu est toujours facile à reconnaître par la coloration toujours assez puissante de la paroi en poicent et par l'apparition des festons déterminant la ligne de rupture.

Quelle est la signification de ce phénomène de rupture dans la biologie des espèces de ce genre ? Je n'ai encore pu le savoir, à

Digitized by Google

cause de la rareté des individus dans les pêches planctoniques où je les ai observés. En tout cas c'est le seul exemple, à ma connaissance, d'une séparation des individus de la colonie, très différente du type normal succédant à la division. Je n'ai rien observé de semblable chez les *Chætoceros* qui se rapprochent à certains égards du genre *Bacteriastrum*, le *Chætoceros bacteriastroïdes*, décrit par Karsten (1), constituant une espèce de transition entre les deux genres.

Lorsqu'on examine les espèces de *Bacteriastrum* après avoir traité les récoltes par l'hypochlorite de potassium et la potasse alcoolique, on reconnaît que les cornes bifurquées des articles intermédiaires d e chaque chaîne ne sont pas simples, mais doubles ; elles sont accolées sur la moitié de leur longueur et c'est par l'action prolongée des réactifs qu'on peut provoquer leur séparation ; cette constitution explique pourquoi les cornes des individus intermédiaires de la colonie sont dichotomisées. Lorsque ces cornes se détachent des deux individus qui sont accolés, chacune d'elles tend à se courber en spirale comme les cornes terminales de chaque chaîne. C'est ce qui aurait lieu si ces cornes demeuraient indépendantes, mais comme elles s'accolent l'une à l'autre, les deux courbures contraires qu'elles tendent à prendre sont neutralisées et la corne double qui résulte de leur accolement prend rigoureusement la direction radiale. C'est seulement à partir de l'endroit où le décollement de ces cornes a lieu que chacune d'elles reprend la courbure qu'elle devait prendre.

La disposition des cornes intermédiaires, dans une colonie de *Bacteriastrum*, telle que je viens de l'exposer, est en outre confirmée par la découverte des espèces du même genre décrites par Karsten (2), notamment des *B. minus*, *B. criophilum*, *B. elongatum* où les cornes développées par chacun des individus demeurent indépendantes au niveau de la limite de séparation de ces individus.

Pour compléter ces données nouvelles sur la structure des

(1) G. Karsten, *Das Indische Phytoplankton nach dem Material der Deutschen Tiefsee Expedition*, 1898-1899, p. 390, t. XLIV.

(2) G. Karsten, *Das Phytoplankton der Atlantischen Oceans nach dem Material der Deutschen Tiefsee Expedition 1898-1899 unfter Band*, p. 170, pl. XXXIII (Wissensch. ergeb. d. Deutschen Tiefse Expedition auf d. dampfer Valdivia).

Digitized by Google

espèces indigènes de *Bacteriastrum*, j'ajouterai que la paroi des valves présente, comme chez les espèces du genre *Chæteceros*, des anneaux intercalaires plus ou moins nombreux, engrenant les uns avec les autres, mais les sutures d'union n'ont pas lieu sur la même génératrice.

Ditylium Brightwellii.

(Weest) Grun, *Triceratium undulatum* Brightw., 1858, Further observations on the genera *Triceratium* and *Chætoceros* Quarterly Journ. of microsc. Science London, p. 153, t. VI, fig. 1, 2, 3, 4; *T. Brightwellii* West. Remarks on some Diatomaceae. Trans. of the Microscopical Society, p. 149, t. VIII, fig. 1, 5, 8.

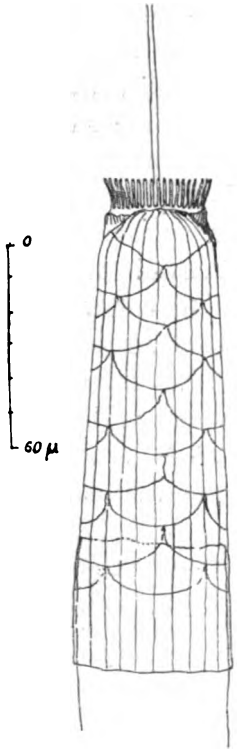


Fig. 13. — *Ditylium Brighwellii*. — Individu montrant les cannelures longitudinales et les écailles dont se composent les valves.

Cette espèce est caractérisée par des valves prismatiques à 3 ou 4 angles présentant à chaque extrémité une longue épine siliceuse insérée au centre d'un cercle plus ou moins régulier de franges doubles.

Dans les récoltes fraîches ou conservées dans l'alcool, cette espèce présente, après coloration par l'hématoxyline, une série de côtes très peu accusées qui font apparaître sur les valves à l'origine tri ou quadrifaciée, en un grand nombre de facettes régulières transformant chaque valve en un prisme, à faces nombreuses, 20 et davantage, de telle sorte que ces faces sont nettement cannelées (fig. 13).

La couronne de franges est constituée par des prolongements doubles insérés sur une membrane d'abord très courte puis, peu à peu, la membrane d'insertion des franges s'accroît en hauteur et forme une collerette à bord extérieur frangé.

Quant aux faces sagittales des valves, elles semblent formées d'une substance homogène, mais si on les examine après l'action de l'hypochlorite de potassium et de la potasse alcoolique, puis après

Digitized by Google

coloration à l'hématoxyline, ou reconnaît que ces valves, plus ou moins fripées par suite de la dissolution de la silice, sont formées, non plus par des anneaux intercalaires, mais par des écailles dont le bord convexe est situé du côté de l'ouverture des valves ; la largeur de ces écailles est d'environ 25 à 30, pour des valves ayant un diamètre de 35 à 45 μ (fig. 13).

Leptocylindrus danicus.

Cleve, 1889, Pelagiske Diatomeer fran Kattegal. Kjöbenhavn, p. 54 ; 1894. Plantomendersökuingar... Stockholm, p. 15, t. II, fig. 4, 5.
non *Leptocylindrus danicus* Schütt, 1900. Centrifugale und simultane Membranverdickungen Leipzig. Jahrb. f. wen. Bot., p. 504, t. XII, fig. 23, 24, 33.

Le *Leptocylindrus danicus* Cleve est caractérisé par des cellules cylindriques accolées bout à bout en chaîne facilement dissociables. D'après Gran (1), « les anneaux intercalaires sont « invisibles même après la calcination ».

A l'état frais ou dans le plancton conservé dans l'alcool, l'hématoxyline colore uniformément la paroi des valves et ne laisse rien apparaître de la structure, mais après l'action de l'hypochlorite de potassium et de la potasse alcoolique, les parois sont extrêmement fripées et fortement plissées dans le sens transversal, par suite de la dissolution de la silice ; mais il est toujours facile de distinguer avec la plus grande netteté les anneaux intercalaires dont les lignes de suture engrènent les les unes avec les autres le long d'une seule et même génératrice (fig. 14).

Fig. 14. — *Leptocylindrus danicus* montrant les anneaux intercalaires des valves.

On voit par ces exemples, que je me propose de multiplier dans une prochaine communication, l'importance de la méthode d'analyse microchmique des membranes dans l'analyse qualitative du plancton et dans la connaissance plus approfondie des éléments qui le constituent.

(1) H. H. Gran, *Nordisches Plankton*, XIX Diatomeen, p. 24, fig. 24.

Digitized by Google

Digitized by Google

RECHERCHES ANATOMIQUES

SUR

LA GERMINATION DES HYPÉRICACÉES ET DES GUTTIFÈRES

Par Georges BRANDZA

INTRODUCTION

Les familles des Hypéricacées et des Guttifères (ou Clusiacées) ont fait l'objet de nombreux travaux touchant l'anatomie comparée ou la classification ; il n'existe, en revanche, pour ainsi dire aucun travail sur l'étude comparée des embryons et de leur germination.

On sait que les Hypéricacées diffèrent fort peu de certaines Guttifères, toutes les transitions pouvant s'observer entre les deux familles ; M. Engler réunit les Hypéricacées aux Guttifères, tandis que M. Van Tieghem considère ces deux familles comme distinctes.

Je me suis proposé de faire cette étude comparée des embryons et de leur germination, pensant que ce travail serait intéressant au point de vue général, et qu'il pourrait en outre, servir à la délimitation de ces deux familles si voisines.

Une des grandes difficultés de ce genre de recherches est la réunion des matériaux ; je n'ai pas malheureusement pu me procurer des échantillons de tous les genres et de toutes les espèces. J'ai pu, pourtant, grâce à l'amabilité de M. le Professeur J. Costantin et à ses nombreux correspondants, me procurer la plupart de mes échantillons ; qu'il me soit permis de lui adresser ici mes plus vifs remerciements.

Je remercie également M. Treub, Directeur de l'Institut Bota-

Digitized by Google

nique de Buitenzorg, et M. Marcel Dubard, Maître de conférences à la Faculté des Sciences de Paris, pour les graines de Guttifères qu'ils m'ont données.

Je dois aussi à M. J.-C. Willis, Directeur de l'Institut Botanique de Peradenyia et à M. Georges Poirault, Directeur de la villa Thuret, des graines d'Hypéricacées et leur en suis reconnaissant.

Mes germinations ont été obtenues soit dans la serre du laboratoire de Biologie végétale de Fontainebleau, soit dans celles du Muséum d'Histoire naturelle, grâce à la bienveillante permission de M. Costantin.

Ce travail a été fait au laboratoire de Botanique de la Sorbonne et au laboratoire de Biologie végétale de Fontainebleau. J'adresse à mon Maître M. Gaston Bonnier, Directeur de ces deux laboratoires, mes vifs remerciements non seulement pour les encouragements et les précieux conseils qu'il m'a prodigués, mais encore pour toutes les facilités de travail que j'ai trouvées dans ses laboratoires.

Qu'il me soit permis aussi de remercier M. G. Chauveaud, Directeur adjoint à l'École de Hautes Études, pour les excellents conseils qu'il a bien voulu me donner.

TECHNIQUE

Pour effectuer mes recherches, j'ai employé la méthode des coupes à la main, ou la méthode habituelle des inclusions dans la paraffine en fixant les parties de la plante, soit avec le fixateur Flemming, soit avec l'alcool acétique, soit, dans la majorité des cas, avec l'alcool à 70°.

L'usage de l'hypochlorite rend impossible l'emploi des rubans de paraffine, lorsqu'ils sont collés sur lame. Je me suis servi du procédé indiqué dans sa thèse par M. Chauveaud (1), consistant dans l'emploi de microplynes et de poudre de verre ; j'ai combiné ce procédé avec la méthode habituelle des inclusions.

On met dans un microplyne, contenant déjà une couche de poudre de verre, le ruban de paraffine ; on se débarrasse de la

(1) G. Chauveaud, *Sur l'embryogénie de l'appareil laticifère* (Ann. Sc. nat., 7e série, t. XIV, 1891).

Digitized by Google

paraffine en mettant le tout dans le xylol ; on étale ensuite encore une nouvelle couche de poudre de verre et on arrive à hydrater les coupes en passant le microplyne dans la série des alcools ; on soumet le microplyne contenant les coupes aux différents réactifs. A la fin, en renversant le contenu du microplyne dans un verre de montre rempli d'eau, les coupes flottent et on peut les prendre et les monter.

Pour observer le mode de développement des tubes criblés on doit suivre une technique spéciale, indiquée par M. G. Chauveaud (1). En signalant le premier, en 1897, une phase tout à fait spéciale dans la différenciation et dans le fonctionnement des tubes criblés primaires, phase qu'il a appelée « *phase de différenciation maximum* », cet auteur nous donne la méthode et le procédé de coloration qu'il faut suivre si l'on veut mettre en évidence les premiers tubes criblés. Depuis, dans les Mémoires qu'il a publiés (2), il insiste sur cette technique qu'il emploie et avec laquelle, d'une manière précise, on peut voir les premiers tubes criblés formés.

Je rappelle cette méthode qui est très simple : après avoir traité les coupes par l'hypochlorite de soude pour se débarrasser du contenu des cellules, on les soumet à l'action de la potasse assez concentrée (quelques pastilles de potasse dans un verre de montre) pendant trois à cinq minutes ; ensuite, après les avoir bien lavées à l'eau, on les traite par l'eau fortement acidulée par l'acide acétique. Ce traitement doit durer de cinq à dix minutes, puis sans laver les coupes, on les met dans le brun Bismarck (en solution alcoolique ou aqueuse). Les coupes sont laissées dans le colorant dix à douze minutes, puis on les lave soigneusement à l'alcool, et on peut ensuite les monter dans la glycérine ou dans le baume de Canada.

Le brun Bismarck présente encore un avantage en ce qui concerne la microphotographie, car les coupes se prêtent extrêmement bien à la photographie.

(1) G. Chauveaud, *Sur l'évolution des tubes criblés primaires* (C. R. Acad. des Sc., p. 546, t. CXXV, 1897).

(2) G. Chauveaud, *Recherches sur le mode de formation des tubes criblés dans la racine des Monocotylédones* (Ann. des Sc. nat., 8e série, t. IV). — *Recherches sur le mode de formation des tubes criblés dans la racine de Dicotylédones* (Ann. des Sc. nat., 8e série, t. XII).

Digitized by Google

HISTORIQUE

Avant d'exposer mes recherches je résumerai nos connaissances sur la morphologie des embryons et des plantules d'Hypéricacées et de Guttifères en examinant brièvement les divers travaux qui ont été publiés jusqu'à ce jour.

C'est à l'ouvrage fondamental de Gærtner qu'il faut remonter pour avoir les premières descriptions précises.

En 1788, Gærtner (1) nous donne une description d'un embryon d'*Hypericum perforatum :* « Embryo semini conformis, lacteus. Cotyledones semicylindricæ. Radicula crassa, centripeta. Albumen nullum ». La description est accompagnée de figures dans la planche LXII. Ce botaniste donne également dans le même volume (2) une bonne description de l'embryon de *Calophyllum inophyllum* avec deux figures à l'appui. « Embryo semini conformis, erectus, albus. Cotyledones maximæ, carnosæ, eleosæ, plano convexæ, intus sæpe parva cavitate in medio exsculptæ, crassissimæ. Radicula parva, exigui tuberculi conici specie, basi cotyledonum prominens. Albumen nullum. »

Trois ans plus tard, le même auteur (3) donne les figures des embryons de trois espèces de *Garcinia* section *Mangostana* et décrit ces embryons, qu'il suppose à tort entourés d'un albumen et formés par deux cotylédons soudés : « Albumen semini conforme, coriaceum, tenuissimum, in vetustis seminibus helvolum, impressionibus vasorum integumenti inscriptum, cum embryone pertinaciter conferruminatum. Embryo longitudine albuminis sed angustior, nunc fere linearis aut lineari lanceolatus, nunc ovato-lanceolatus, semper vero compressus, pseudo monocotyledoneus, inversus. Cotyledones foliaceæ, planæ, in unum corpus indiscretum coalitæ.

Radicula e cotyledonibus sensim attenuatis enata, infera (non supera, qualem fig. *g* exhibet), Tab. CV.

(1) Josephus Gærtner, *De fructibus et seminibus Plantarum*, t. I, p. 300, (Stutgardiæ Typis Academiæ Carolinæ, 1788).

(2) *Loc. cit.*, p. 201, fig. *c* et *d*, Tab. XLIII.

(3) Josephus Gærtner, *De fructibus et seminibus Plantarum*, t. II, p. 106 (Tubingæ, Typis Guilielmi Henrici Schrammii, 1791).

Digitized by Google

Albumen longitudinaliter dissectum, cum forma embryonis in variis varia. »

Antoine Laurent de Jussieu (1) en 1789 crée les deux familles des Hypéricacées et des Guttifères; les Hypéricacées constituent le huitième ordre sous le nom d'*Hyperica*, les Millepertuis, et le neuvième ordre est constitué par les *Guttiferæ* (2), les Guttiers.

Les Hypéricacées sont rapprochées par de Jussieu des Guttifères à cause de leur résine, mais ce botaniste ajoute que, par le fruit capsulaire et par les graines extrêmement petites, les Hypéricacées diffèrent des Guttifères, quoiqu'il avoue que la petitesse des graines l'empêche de connaître leur structure.

En 1811, L. C. Richard (3) décrit très exactement la graine du *Clusia palmicida*: elle est recouverte de deux téguments minces et dépourvue d'albumen (périsperme pour Richard); la tigelle, que Richard appelle « radicule », est très grande et occupe tout l'intérieur de la graine; l'embryon présente à la partie supérieure deux cotylédons très petits.

En 1813, A.-L. de Jussieu (4) attire l'attention sur l'importance pour la classification des caractères fournis par les graines. Après avoir rassemblé les observations faites par Gærtner sur la structure intérieure des fruits et des graines d'Hypéricacées et de Guttifères, il propose de rétablir le genre de Tournefort *Androsæmum* qui a trois styles et une baie et il le sépare des *Hypericum* qui ont un fruit capsulaire; il adopte le genre *Vismia* de Vandelli, caractérisé par cinq styles et une baie à cinq loges. Le genre *Harungana* de Lamarck est rangé dans la série des *Androsæmum* et *Vismia* à cause du fruit qui est une petite baie.

Dans ce Mémoire, de Jussieu insiste de nouveau sur le rapport qui existe entre les Guttifères et les Hypéricacées, par suite du suc résineux que ces deux familles produisent. Attachant une

(1) A.-L. de Jussieu, *Genera Plantarum*, p. 254, 1789.

(2) J'adopte dans ce travail le nom de Guttifères donné par de Jussieu, de préférence à celui de Clusiacées qui n'a été donné qu'en 1836 par Lindley dans son ouvrage : *A natural system of Botany*, 2e édit., p. 74.

(3) Richard, *Analyse botanique des embryons endorhizes ou monocotylédonés et particulièrement de celui des Graminées* (Ann. du Mus., vol. XVII, p. 456, pl. X, fig. 64-65).

(4) A.-L. de Jussieu, *Sur les caractères généraux des familles tirés des graines Hypéricées, Guttifères* (Ann. du Mus., 1813, t. XX, p. 459-469).

Digitized by Google

grande importance aux caractères du fruit, il dit que le fruit des Guttifères est généralement beaucoup plus volumineux, les graines plus grosses et moins nombreuses que le fruit et les graines des Hypéricacées. Jussieu nous fait connaître aussi les principaux traits de la germination du *Mammea* : « Le fruit très gros du *Mammea* contient quatre graines dont chacune est recouverte d'une coque ovoïde, coriace, presque ligneuse; l'amande intérieure n'est recouverte d'aucun tégument qui puisse s'en détacher. »

« Elle est grande, de forme presque ovoïde, de substance solide et même dure, marquée de deux lignes prolongées aux côtes, opposées de la base au sommet où elles se réunissent sur un point peu saillant. Ces lignes paraissent annoncer l'existence de deux cotylédons nus et sans périsperme ; cependant, il est impossible de séparer l'amande naturellement en deux, quoique dans une coupe transversale on aperçoive très sensiblement une ligne qui indique le point d'union des deux parties. M. Poiteau nous a montré dans une graine bien mûre, sous le point saillant au sommet, une très petite radicule, que nous avions cherchée inutilement dans plusieurs autres graines. Il avait aussi observé à Saint-Domingue la germination de cette graine, qu'il avait dessinée sur les lieux. On voit dans ce dessin sortir du sommet de la graine restée entière, un prolongement qui se divise bientôt pour former supérieurement la plumule et inférieurement la radicule et dans cette végétation la graine entière persiste sur le côté. La même observation est consignée dans une note manuscrite de Richard rédigée en Amérique. Nous trouvons encore cette disposition latérale de la graine germante, dans un très jeune échantillon d'une espèce de *Calophyllum* qui existe dans notre herbier. »

De Jussieu termine son Mémoire en résumant les caractères généraux de la graine des Guttifères ; l'embryon est sans « périsperme », composé de deux grands cotylédons qui sont libres comme dans *Calophyllum* ou intimement soudés comme dans *Ochrocarpus*. Il applique malheureusement à la majorité des Guttifères cette notion, exacte pour les *Calophyllum* et *Ochrocarpus*.

Choisy (1) admet, comme de Jussieu, que la masse principale

(1) *Mém. Soc. Hist. nat. Par.*, I, p. 217.

Digitized by Google

de l'embryon des Guttifères consiste en deux cotylédons soudés. Cambessèdes (1), en admettant la manière de voir de Jussieu et de Choisy, décrit un embryon de *Calophyllum* et un embryon de *Mesua ferrea*.

Martius (2) décrit l'embryon de *Platonia insignis* comme entouré d'un albumen : « Embryone intra albumen spissum carnosum solidum curvulo nunc cylindrico nunc clavato ». Roxburgh (3) en 1832 voit, de même que Martius, l'embryon entouré d'un « périsperme » en décrivant la graine de *Garcinia Mangostana*, de *Garcinia zeylandica*, de *Garcinia Kydia*, de *Xanthochymus dulcis* ; il insiste également sur le mode de germination de ces plantes et constate que la racine principale s'atrophie rapidement et est remplacée par une forte racine adventive qui se développe à la base de la plumule. Thwaites (4) figure une graine de *Garcinia terpnophylla* (*Terpnophyllum zeylanicum*) et émet l'opinion qu'il y a, au milieu d'un albumen, un embryon ou une radicule interne.

John Miers (5), dans un mémoire détaillé, résume les connaissances qu'on avait en 1854 sur l'embryon des Guttifères, en insistant sur les faits donnés par Richard et laissés de côté par Choisy. Il donne le nom de *néorhize* à la soi-disant « radicule interne » de Thwaites.

Spruce (6), en 1855, étudie la germination de *Clusia* ; il constate que la tigelle et la radicule s'allongent et que les cotylédons sont très réduits, de deux à quatre millimètres de diamètre quand ils sont épanouis.

En 1860-1861, paraît un mémoire important de Planchon et Triana (7). Ces auteurs, donnant une grande valeur à l'organisation des graines et montrant que cette organisation a une grande

(1) J. Cambessèdes, Mém. sur les fam. des Ternstrœmiacées et des Guttifères (*Mém. Mus. Hist. nat.*, XVI, 1828).

(2) De Martius, *Nov. gen. et spec.*, *Plant. Brasil.* (vol. III, 1829, p. 169).

(3) Roxburgh, *Flora Indica*, or Descriptions of indian plants, II, p. 620, 1832.

(4) Thwaites, *Journ. of Bot. and Kew Gard. Miscell.*, VI, p. 70, 71, 1854.

(5) John Miers, *Observations on the structure of the seed and peculiar form of the Embryo in the Clusiaceæ* (Transact. of the Linn. Soc., 1854, vol. XXI, p. 243-258).

(6) Spruce (Hook. Journ. of Bot., VII, p. 347, 1855).

(7) Planchon et Triana, *Mémoire sur les Guttifères* (Ann. Sc. nat., 4e série, 1860-1861, t. XIII, XIV, XV et XVI).

Digitized by Google

importance pour la classification, distinguent dans les Guttifères trois types d'embryons « d'organisation bien tranchée ».

« *Premier type.* — Embryon à tigelle (radicule) (1) très grosse, à cotylédons très petits, mais bien distincts. Telle est l'organisation que L.-C. Richard, le premier, signala chez un *Clusia* de Cayenne (*Clusia palmicida* Rich.), que Turpin retrouva chez *Clusia rosea*, et que nous regardons comme constant chez toutes les Guttifères à fruit capsulaire avec une placentation axile ».

« *Deuxième type.* — Embryon à tigelle (radicule) énorme, plus ou moins tubériforme, offrant une moelle plus ou moins développée, que l'on a décrite souvent comme commissure de cotylédons soudés ou comme une radicule intérieure. Cotylédons nuls, ou représentés par de simples replis de la surface de la graine. Ce type se rencontre chez les Garciniées et les Moronobées. »

« *Troisième type.* — Embryon à tigelle (radicule) très petite, à cotylédons énormes, libres ou soudés; caractère général chez les Calophyllées et les Quiinées » (2).

A la fin de ce Mémoire, Planchon et Triana nous donnent, en même temps qu'un historique, des renseignements sur la germination des Guttifères. Ces auteurs figurent en outre la germination de *Xanthochymus dulcis*; de plus, ils représentent deux embryons soudés de la même plante ayant germé ensemble et ajoutent que ce cas de polyembryonie est assez fréquent dans cette plante.

Bentham et Hooker (3), dans le *Genera Plantarum*, et Baillon (4), dans l'*Histoire des Plantes*, donnent également des détails sur l'embryon des Hypéricacées et des Guttifères.

M. Van Tieghem, dans son Mémoire sur les canaux sécréteurs des plantes (5) étudie aussi les embryons de Guttifères (Clusiacées). Il distingue, suivant les genres, cinq manières d'être des embryons de ces plantes; 1° les cotylédons sont tuberculeux

(1) Planchon et Triana rappellent que les auteurs qui les ont précédés appelaient radicule la tigelle.

(2) Planchon et Triana placent dans les Guttifères les Quiinées qui, comme nous le verrons plus loin, sont considérées comme une famille spéciale.

(3) G. Bentham et J.-D. Hooker, *Genera plantarum*, 1862, vol. I, p. 163-176.

(4) H. Baillon, *Histoire des Plantes*, t. VI, 1877. On trouve également dans cet ouvrage l'histoire très détaillée de la classification de ces deux familles.

(5) Ph. Van Tieghem, *Second mémoire sur les canaux sécréteurs des plantes* (Ann. Sc. nat., Bot., 7e série, t. I, p. 42, 1885).

Digitized by Google

(*Calophyllum*, *Mammea*, etc.); 2° la tigelle est tuberculeuse par l'écorce et les cotylédons sont petits (*Clusia*, etc.); 3° la tigelle est tuberculeuse par l'écorce et les cotylédons manquent (*Montrouziera*, etc.); 4° la tigelle est tuberculeuse par la moelle et les cotylédons sont petits (*Pentadesma*); 5° la tigelle est tuberculeuse par la moelle et les cotylédons sont nuls (*Xanthochymus*).

Dans *Pentadesma butyracea*, cet auteur insiste sur un fait très intéressant : « Dans l'embryon de cette plante qui manque d'appareil spécial de sécrétion, cette fonction sécrétrice s'opère individuellement dans chaque cellule du parenchyme. Je donne la description de M. Van Tieghem : « Le parenchyme cortical et médullaire est entièrement dépourvu de canaux sécréteurs. Cependant, bien qu'elle manque d'organes spéciaux, la fonction sécrétrice ne s'en accomplit pas moins; seulement elle est réduite à s'opérer individuellement dans chaque cellule du parenchyme : au lieu d'être localisée, elle est diffuse. Outre son contenu gras, dont une partie cristallise en un paquet de longues et fines aiguilles, comme dans le *Montrouziera* et plusieurs autres Clusiacées, chaque cellule du parenchyme produit, en effet, une oléorésine jaune brun ; ce produit de sécrétion est intimement appliqué contre la membrane qu'il revêt d'une couche plus ou moins épaisse; çà et là il forme, en outre, un globule dans la cavité. Il en résulte que, sur les sections, le tissu offre l'aspect d'un fin réseau jaune brun, dont les mailles sont occupées par la matière grasse. »

L. Pierre (1) dans *Garcinia Vilersiana* dit que : « l'embryon est charnu et indivis ; on distingue au centre, dans toute la longueur de son axe, un tube fibro-vasculaire. Il se prolongera au moment de la germination en une radicule basilaire dont le développement s'arrêtera au moment où naîtra la tigelle (2) au sommet et au pôle opposé de la graine; c'est à la base de cette tigelle que sortira la racine adventive destinée à soutenir et à nourrir la jeune plante. On rencontre uniformément le même caractère de germination dans tous les *Garcinia* et les *Ochrocarpus*. »

En 1892 John Lubbock (3) décrit, au point de vue de la mor-

(1) L. Pierre, *Flore forestière de la Cochinchine*, fasc. V, 1883.
(2) Mot employé par Pierre au lieu de gemmule ou jeune tige.
(3) John Lubbock, *A contribution to our knowledge of seedlings*. London, 1892, vol. I, p. 231-236.

Digitized by Google

phologie externe, le fruit, la graine et la plantule d'*Hypericum Androsæmum* (*Androsæmum officinale*) parmi les Hypéricacées, et de *Xanthochymus pictorius* Roxb., *Calophyllum inophyllum* L. et *Mesua ferrea* L. parmi les Guttifères.

R. Keller dans les *Pflanzenfamilien* (1) nous donne quelques figures de morphologie externe de la graine du genre *Hypericum*; M. Engler, dans le même ouvrage, nous donne quelques renseignements accompagnés de quelques figures de morphologie externe de la graine et de quelques coupes d'embryons pour le reste des Hypéricacées et pour les Guttifères.

J. Vesque (2) dans son excellente monographie des Guttifères fournit de très bonnes descriptions de la morphologie externe de l'embryon de beaucoup de Guttifères.

En 1897, M. E. Heckel (3) décrit sommairement la structure de l'embryon de *Pentadesma butyracea*. En 1899 (4), cet auteur décrit la formation des canaux sécréteurs dans un embryon d'*Allanblackia floribunda* au commencement de la germination.

M. Heckel suppose à ces canaux, ainsi qu'à ceux de l'embryon d'*Ochrocarpus siamensis*, une origine lysigène, bien qu'il n'ait pas assisté à leur formation. On verra plus loin ce qu'il faut penser de cette manière de voir.

Comme je n'étudie dans mon travail que l'embryon et la plantule des Hypéricacées et des Guttifères, je passerai sous silence les nombreux travaux d'anatomie comparée faits sur ces deux familles; je me bornerai à renvoyer le lecteur à l'excellent ouvrage de M. Solereder (5).

(1) Engler und Prantl, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, t. III, 1895. Leipzig.

(2) J. Vesque, *Guttiferæ*, dans les *Suites au Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, continué par A. et C. de Candolle. Paris, 1893.

(3) E. Heckel, *Les graines grasses nouvelles ou peu connues des colonies françaises* (Ann. de l'Inst. colonial de Marseille, 5e année, vol. IV, 1897, p. 167).

(4) E. Heckel, *Sur la formation des canaux sécréteurs dans les graines de quelques Guttifères* (C. R., t. CXXIX, 1889, p. 508-510).

(5) H. Solereder, *Systematische Anatomie der Dicotyledonen*. Stuttgart, 1899; *Suppl.* 1908.

Digitized by Google

HYPÉRICACÉES

J'ai eu à ma disposition une grande quantité de graines des genres *Hypericum* et *Haronga* et j'ai obtenu facilement des germinations de toutes ces plantes.

Le genre *Hypericum* comprend, à lui seul, la plus grande partie des *Hypéricacées*. Spach (1) le considérait comme très hétérogène et l'a démembré en un grand nombre de genres ; les genres de Spach sont le plus souvent considérés, notamment par R. Keller (2), comme des sections ou des sous-genres.

Les graines des diverses espèces d'*Hypericum*, au point de vue de la morphologie externe, sont bien caractérisées, notamment par les ornementations du tégument de la graine. En revanche, il y a peu de différences au point de vue de la morphologie interne de l'embryon et de la plantule dans les différents sous genres ou sections d'*Hypericum* ; si, au point de vue de la morphologie externe, les plantules diffèrent entre elles en prenant les caractères propres aux espèces auxquelles elles appartiennent, au fur et à mesure qu'elles grandissent, au point de vue de la morphologie interne, ces plantules ont une grande uniformité de structure.

Je décrirai tout d'abord dans les Hypéricées, l'*Hypericum perforatum* L., type de la section *Milleporum* du genre *Hypericum* pour Spach, l'*Hypericum calycinum* L. qui pour Spach est le type d'un genre *Eremanthe* de la tribu des Androsæminées, et l'*Hypericum Elodes* L. dont Spach a fait l'*Elodes palustris*.

Dans les Vismiés, j'ai étudié *Haronga paniculata* Pers. (*H. madagascarensis* Choisy).

Hypericum.

Embryon.

L'embryon d'*Hypericum perforatum* est très petit ; il est cylindrique, ovoïde, à peine long d'un millimètre ; il est droit,

(1) Suites à Buffon, *Hist. nat. des végétaux*, V, 335, et *Ann. Sc. nat.*, 2e série, V, 157, 349.

(2) In Engler et Prantl, *Pflanzenfam.*, t. III, 1895.

Digitized by Google

présente une très petite radicule, une tigelle bien développée et deux cotylédons libres, semi-cylindriques, formant un peu moins de la moitié de l'embryon. L'embryon d'*Hypericum* (*Eremanthe*) *calycinum* L. est semblable à celui d'*Hypericum perforatum*, il en diffère seulement par sa taille plus grande, mesurant toujours un millimètre et demi de long, et par l'inégale longueur des cotylédons. L'*Hypericum Elodes* L. présente un embryon excessivement petit d'à peine un demi-millimètre de longueur, mais la conformation est pareille à celle de l'*Hypericum perforatum*.

Les embryons que j'étudie maintenant provenaient de graines ayant séjourné trois jours dans l'eau; ils ont été fixés par la liqueur de Flemming.

Radicule. — Une coupe longitudinale axiale dans la région radiculaire d'un embryon d'*Hypericum perforatum* ou d'*Hypericum calycinum* nous montre une coiffe représentée par deux ou trois assises de cellules avec deux initiales, l'écorce et le cylindre central ont également, chacun pour leur compte, deux initiales. Le cylindre central est bien distinct de l'écorce dès le sommet, comme M. Flahault (1) l'a montré dans l'*Hypericum Gebleri* Ledeb. Dans ce cylindre central il n'y a aucune différenciation.

Tigelle. — Des coupes transversales pratiquées dans la tigelle montrent une écorce constituée par cinq ou six assises de cellules dans *Hypericum perforatum* et *H. Elodes*, six ou sept dans *H. calycinum*. Les cellules de l'écorce sont polyédriques plus ou moins arrondies avec un protoplasma granuleux et de petites gouttelettes de nature oléagineuse. Ces cellules sont plus petites dans l'*Hypericum Elodes* que dans les *Hypericum perforatum* et *H. calycinum*. L'endoderme ne présente rien de particulier.

Le cylindre central de la tigelle d'un embryon d'*Hypericum perforatum*, d'*H. Elodes* et d'*H. calycinum* est limité par une assise péricyclique très nette. L'appareil conducteur est différencié seulement dans la partie supérieure de la tigelle; on distingue deux faisceaux ligneux formés chacun par un ou deux vaisseaux à peine lignifiés, et, alternant avec eux, deux

(1) Ch. Flahault, *Recherches sur l'accroissement terminal de la racine chez les Phanérogames* (Ann. Sc. nat., 6e série, t. VI, p. 105).

Digitized by Google

faisceaux libériens réduits chacun à un seul tube criblé à peine formé ; un peu plus haut, c'est-à-dire immédiatement au-dessous des cotylédons, on trouve, de chaque côté des faisceaux ligneux, deux tubes criblés notablement écartés et situés au voisinage des faisceaux ligneux en ayant une disposition toujours alterne. L'appareil sécréteur n'est pas encore différencié, on verra qu'il apparaît aussitôt que la germination commence. La différenciation de l'appareil conducteur de l'*H. Elodes* est encore moins prononcée que dans les autres espèces.

Cotylédons. — Dans les cotylédons, l'appareil conducteur est à peine ébauché ; il est constitué par un cordon de cellules allongées dans lequel ni les tubes criblés ni les vaisseaux ne sont différenciés. Le limbe des cotylédons d'*Hypericum perforatum* ou d'*H. calycinum* ne présente ni poches, ni canaux sécréteurs, mais, de distance en distance, on voit sur les bords du cotylédon, sous l'épiderme, une cellule plus grande à contenu granuleux, à noyau assez grand, qui donnera naissance, par des divisions, à une poche sécrétrice, lors de la germination. On trouve même parfois ces cellules en voie de division dans les embryons seulement gonflés par l'eau.

Une coupe longitudinale axiale faite dans un embryon d'*Hypericum calycinum* ayant séjourné quatre ou cinq jours dans l'eau dont le tégument commençait à se déchirer nous montre une gemmule peu développée (Pl. VII, fig. 10). L'ébauche des faisceaux conducteurs se termine brusquement près de l'extrémité des cotylédons. Les futurs vaisseaux sont en contact avec un parenchyme formé de cellules petites, à membrane mince, différentes des autres cellules du limbe et recouvert par un épiderme qui est pourvu de deux cellules stomatique, à l'extrémité du cotylédon. Nous nous trouvons en présence du début de la différenciation d'un hydathode ou stomate aquifère.

Germination.

Le mode de germination des *Hypericum* étant le même dans les nombreuses espèces que j'ai examinées, je décrirai seulement celui d'*Hypericum perforatum*. On observe d'abord une fente

Digitized by Google

dans le tégument dans la région du micropyle où va poindre la radicule ; aussitôt que la radicule est sortie, la tigelle s'allonge très vite, présentant à la base un petit renflement, indiquant le collet et portant une couronne de poils absorbants. L'apparition de ces poils absorbants est très précoce, car on peut déjà les observer lorsque la radicule commence à peine à pousser ; ces poils ont une durée assez longue et peuvent persister même après l'apparition des premières feuilles. Les cotylédons renfermés d'abord dans le tégumeut de la graine, s'accroissent, rejettent ce tégument et finissent ainsi par bien s'épanouir.

La radicule donnera toujours naissance à la racine principale de la plante ; la moitié inférieure de la tigelle peut donner naissance à des racines adventives très grêles.

L'*Hypericum Elodes* se développe comme l'*Hypericum perforatum* ; il se forme de petites racines adventives sur la tigelle et sur la jeune tige bientôt rampante.

Plantule très jeune. — Étudions d'abord la structure d'une très jeune plantule d'*Hypericum perforatum* dont les cotylédons ne sont pas encore séparés l'un de l'autre et sont encore à moitié enfermés dans le tégument séminal, dont la tigelle a environ 10 millimètres de longueur, et dont la radicule, de 3 millimètres de long environ, commence à s'allonger.

Radicule. — En pratiquant une coupe transversale au sommet de la radicule à un niveau où la coiffe n'est pas complètement exfoliée, on observe une assise pilifère dépourvue de poils absorbants, une écorce externe formée de deux assises de cellules polyédriques ne présentant pas de méats entre elles et une écorce interne formée de trois assises de cellules rectangulaires disposées en séries radiales très régulières. Les cellules de cette écorce interne sont de plus en plus aplaties à mesure qu'elles sont plus profondes. L'assise la plus profonde, c'est-à-dire l'endoderme, est constituée par des cellules encore en voie d'agrandissement présentant une forme pentagonale, aplaties dans le sens tangentiel, avec un contenu protoplasmique granuleux et avec des membranes latérales non encore pourvues de plissements.

Le cylindre central est très petit, limité par une assise péricyclique simple. Les cellules du péricycle alternent avec celles

Digitized by Google

de l'endoderme; elles en diffèrent aussi par leur taille et par leur forme hexagonale.

Dans le cylindre central, il n'y a encore, comme tissu conducteur, que deux faisceaux libériens représentés chacun par un tube criblé, de forme losangique caractéristique et dont la membrane épaissie se colore fortement par le brun Bismarck. J'ai suivi leur mode de formation qui est conforme à celui que M. Chauveaud a signalé dans un grand nombre de plantes. Ce botaniste (1) a montré le premier avec précision la naissance des tubes criblés primaires dans les racines, signalant dans leur évolution une phase tout à fait spéciale à ces éléments, qu'il appelle *phase de différenciation maximum* et qui correspond au plus haut degré de leur différenciation.

La forme losangique d'un tube criblé comme M. Chauveaud l'a montré, est une conséquence de son mode de développement. En effet, quand la cellule mère du tube criblé, comme c'est le cas dans cette racine d'*Hypericum perforatum*, se divise par une cloison inclinée faisant avec le rayon un angle de 45°, le tube criblé qui en résulte a toujours la forme losangique très caractéristique.

Si on pratique une coupe transversale près de la base de la tigelle, au-dessous du renflement constituant le collet, on observe (pl. V, fig. 1) la même structure dans l'écorce; seulement ici, l'assise pilifère a donné naissance à de très nombreux poils absorbants.

Dans le cylindre central on remarque l'apparition de deux faisceaux ligneux représentés chacun par un vaisseau, les faisceaux libériens sont encore représentés chacun par un seul tube criblé. A droite et à gauche de chaque tube criblé, on observe sur le même cercle, une cellule d'origine péricyclique en voie

(1) G. Chauveaud, *Sur le développement du faisceau libérien de la racine des Graminées* (Bull. du Mus. Hist. nat., t. I, 1895). — *Sur le mode de formation des faisceaux libériens de la racine des Cypéracées* (Bull. Soc. bot. de France, t. XLII, 1895). — *Sur le développement des tubes criblés chez les Angiospermes* (C. R., t. CXX, 1895). — *Recherches sur le mode de formation des tubes criblés dans la racine des Monocotylédones* (Ann. Sc. nat., 8e série, t. IV). — *Sur l'évolution des tubes criblés primaires* (C. R. Acad. des Sc., p. 546, t. CXXV, 1897). — *Sur la structure de la racine de l'Hydrocharis Morsus-ranæ* (Revue gén. de bot., t. IX, p. 360, 1897). — *Recherches sur le mode de formation des tubes criblés dans la racine des Dicotylédones* (Ann. Sc. nat., 8e série, t. XII).

Digitized by Google

de division, qui donnera naissance bientôt à un canal sécréteur. La structure de la jeune racine principale est la même dans l'*Hypericum calycinum* et dans l'*Hypericum Elodes*, la seule différence pour cette dernière espèce réside dans l'écorce qui est déjà lacuneuse et dans le cylindre central qui est un peu plus petit.

Tigelle. — Une coupe transversale de la tigelle dans sa région médiane montre (Pl. V, fig. 2) : un épiderme formé par des cellules assez grandes et recouvertes d'une mince cuticule; une écorce constituée par cinq assises de cellules laissant des méats entre elles et dont l'assise la plus profonde, l'endoderme, offre les plissements caractéristiques sur les parois latérales de ses cellules.

Le cylindre central est grêle ; l'appareil conducteur et l'appareil sécréteur sont bien représentés. On observe deux faisceaux libériens bien formés comptant de trois à cinq tubes criblés, et, alternant avec les précédents, deux faisceaux ligneux, comptant deux ou trois vaisseaux formant une série radiale, vis-à-vis desquels le péricycle est dédoublé ; les deux faisceaux ligneux peuvent souvent s'unir vers le centre, auquel cas la moelle n'existe pas. A droite et à gauche de chaque faisceau libérien, on observe la présence d'un canal sécréteur dont l'origine est péricyclique comme l'a déjà indiqué M. Van Tieghem (1).

La même structure se retrouve dans les tigelles des *Hypericum* (*Eremanthe*) *calycinum* (Pl. VI, fig. 6 et 8), *Hypericum Androsæmum* L. (*Androsæmum officinale* All.), *Hypericum quadrangulum* L., *Hypericum tomentosum* L., *Hypericum montanum* L. et *Hypericum balearicum* L.

Dans *Hypericum Elodes* L. (*Elodes palustris* Spach) (Pl. VII, fig. 12 et 13) l'écorce est très lacuneuse et le cylindre central très petit. L'épiderme a des cellules recouvertes d'une très mince cuticule ; l'écorce comprend quatre couches de cellules très lâches avec de grandes lacunes entre elles ; enfin la cinquième assise corticale, l'endoderme, offre les plissements latéraux caractéristiques. Le cylindre central, très réduit, est limité par une assise péricyclique simple. L'appareil conducteur est

(1) Ph. Van Tieghem, *Canaux sécréteurs des plantes*, second mémoire (Ann. Sc. nat., 7e série, t. I, p. 51 ; 1885).

Digitized by Google

représenté par deux faisceaux ligneux formés chacun de deux, rarement trois vaisseaux. Ces faisceaux ligneux se touchent au milieu, de sorte qu'il n'y a pas de moelle. Alternant avec ces deux faisceaux ligneux, il y a deux faisceaux libériens bien développés. Sur la figure 12 (Pl. VII) on voit, sur le flanc d'un faisceau libérien et sous le péricycle, un canal sécréteur bien formé.

A un niveau supérieur de quelques dizaines de μ à celui figuré, ce canal semble inclus dans le liber par suite du développement d'un tube criblé (Pl. VII, fig. 13) de l'autre côté du canal. Sur cette dernière figure, on observe aussi très bien la disparition dans les faisceaux ligneux des premiers vaisseaux, leur place étant indiquée par une lacune qui, bientôt, disparaîtra aussi, étant comblée par suite de la division ou de l'agrandissement des cellules voisines.

Examinons maintenant la structure de la tigelle d'*Hypericum perforatum* ou d'*Hypericum calycinum* sur des coupes transversales successives, partant du milieu et s'approchant des cotylédons; on constate que les faisceaux ligneux se continuent en ligne droite verticalement, gardant sur toute la longueur de la tigelle une position alterne avec les faisceaux libériens. On observe, dans chaque faisceau libérien, au fur et à mesure qu'on s'approche des cotylédons, deux groupes de tubes criblés séparés par une bande de plus en plus large de tissu conjonctif.

La figure 5, planche VI, représente une coupe transversale d'une très jeune tigelle d'*Hypericum calycinum* menée tout près des cotylédons. On voit les deux faisceaux ligneux alternant encore avec deux faisceaux libériens de chaque côté. Entre ces deux faisceaux libériens, les cellules de conjonctif sont en division et c'est ici que plus tard naîtront les faisceaux caulinaires. On voit aussi, sur la figure, les canaux sécréteurs d'origine péricyclique. Les faisceaux ligneux présentent un ou deux vaisseaux à position intermédiaire à côté d'un ou deux vaisseaux alternes primitifs qui persistent encore. On observe aussi, sur la coupe, des cloisonnements du péricycle, la formation de nouveaux tubes criblés et l'apparition de cloisons secondaires indiquant le début de la disposition superposée.

Digitized by Google

Cette disposition superposée s'établit presque sur place, puisque sur une coupe du nœud cotylédonaire, qui est à un niveau plus élevé d'un dixième de millimètre, cette disposition superposée est des plus nettes; les vaisseaux alternes et intermédiaires ont disparu, les vaisseaux secondaires se sont différenciés et des cloisonnements secondaires se forment donnant naissance à l'assise génératrice entre le bois et le liber. Le passage de la disposition alterne à la disposition superposée se fait dans ces *Hypericum* presque brusquement, tout près des cotylédons. Sur ce passage de la disposition alterne des éléments libériens et ligneux à la disposition superposée, je ne fais que confirmer ce que M. Chauveaud (1) nous a montré depuis longtemps dans un grand nombre de Notes qu'il a consacrées à cette question.

Cotylédon. — Les cotylédons d'*Hypericum perforatum* ou d'*Hypericum calycinum* ont un épiderme formé de grandes cellules sur la face dorsale, et de petites cellules sur la face ventrale; le limbe présente, vers la base, des cellules toutes semblables (Pl. V, fig. 3) et plus haut, dans la région médiane, il montre une assise palissadique très nette (Pl. VI, fig. 7). Toutes ces cellules sont en voie de division très active. Des poches sécrétrices se rencontrent, de distance en distance, sur le bord du limbe. Les nervures ont un appareil conducteur bien différencié, avec une disposition superposée du bois et du liber. Dans le cotylédon d'*Hypericum Elodes*, le limbe est beaucoup plus mince et les cellules plus lâches. On y observe aussi des poches sécrétrices à développement schizogène. — Les stomates aquifères, que nous avions vus à l'extrémité des cotylédons de l'embryon gonflé par l'eau, sont maintenant bien différenciés. Ils persistent tels quels pendant toute la durée des cotylédons, et je n'aurai plus besoin d'en rappeler l'existence en décrivant des plantules plus âgées. J'ai figuré (Pl. VII, fig. 11) un cotylédon

(1) G. Chauveaud, *Sur le passage de la structure primaire à la structure secondaire dans le Haricot* (Bull. du Mus. d'Hist. nat., 1901, p. 23). — *Passage de la position alterne à la position superposée de l'appareil conducteur, avec destruction des vaisseaux centripètes primitifs, dans le cotylédon de l'Oignon (Allium Cepa)* (Bull. du Mus. d'Hist. nat., 1902, p. 52). — *Persistance de la disposition alterne ou primitive dans les cotylédons de la Betterave (Beta vulgaris) et de plusieurs autres Chénopodiacées* (Bull. Soc. bot. de France, t. LIII, 4e série, t. VI, 1906, p. 369).

Digitized by Google

très âgé d'*Hypericum Elodes* montrant le stomate aquifère du sommet et la présence d'autres, nouvellement formés, pendant le cours de la germination. — Je n'ai jamais observé dans les cotylédons les « ponctuations noires » qui ont été décrites dans la feuille par Green, Kienast et d'autres auteurs.

Plantule plus âgée. — Étudions maintenant la structure d'une plantule plus âgée d'*Hypericum perforatum* ayant une racine principale allongée de 30 à 40 millimètres, une tigelle de 15 millimètres de long et une jeune tige avec les deux premières feuilles opposées bien développées.

Racine. — En pratiquant une coupe transversale au milieu de cette racine, on observe, sous une assise pilifère pourvue de poils absorbants, une écorce comprenant six assises de cellules : l'assise subéreuse, puis cinq assises de cellules disposées radialement laissant des méats entre elles ; la dernière de ces assises est l'endoderme, bien caractérisé par ses plissements latéraux.

Une assise péricyclique limite le cylindre central qui présente deux faisceaux ligneux et deux faisceaux libériens ; les faisceaux ligneux comptent chacun trois ou quatre vaisseaux et souvent confluent en une bande diamétrale ; les deux faisceaux libériens comptent chacun quatre à cinq tubes criblés. De part et d'autre de chaque faisceau libérien, on observe un canal sécréteur (que nous n'avions vu qu'ébauché dans une plantule plus jeune) et qui est d'origine péricyclique ; en effet, le péricycle s'est dédoublé par une cloison tangentielle entre chaque faisceau ligneux et libérien ; j'ai observé cette origine péricyclique avec beaucoup de netteté dans la racine de l'*Hypericum calycinum* qui d'ailleurs a exactement la même structure que celle de l'*Hypericum perforatum*. On voit, dans cette racine, d'une façon très nette, la division du péricycle entre les faisceaux ligneux et libériens et la naissance des canaux sécréteurs. On observe quelquefois deux canaux sécréteurs sur le flanc d'un faisceau libérien.

Si on étudie la racine d'*Hypericum Elodes*, on observe sous l'assise pilifère, une écorce lacuneuse formée de 5 ou 6 assises de cellules : l'assise subéreuse, trois assises de cellules avec de très grandes lacunes et enfin deux assises avec des méats dont

Digitized by Google

la plus interne est l'endoderme bien caractérisé par ses plissements sur les parois latérales des cellules. Le cylindre central est limité par une assise péricyclique. L'appareil conducteur est représenté : 1° par deux faisceaux ligneux comptant chacun deux ou trois vaisseaux ; ces deux faisceaux ligneux peuvent confluer en une bande diamétrale, et le centre de la moelle est alors occupé par un gros vaisseau ; 2° par deux faisceaux libériens, comptant chacun trois à cinq tubes criblés. De part et d'autre de chaque faisceau libérien, on observe un canal sécréteur qui est d'origine péricyclique. Ici aussi, comme dans l'*Hypericum calycinum*, le péricycle se dédouble entre les faisceaux libériens et ligneux et la cellule la plus interne résultant de la division en deux d'une cellule péricyclique, donne naissance à un canal sécréteur.

J'ai aussi observé sur d'autres racines de l'*Hypericum Elodes*, dans le cylindre central, un seul canal sécréteur sur le flanc de chacun des faisceaux libériens.

M. Van Tieghem (1), qui a trouvé le premier cette origine péricyclique des canaux sécréteurs, insiste beaucoup sur cette origine en caractérisant les Hypéricacées ; on verra plus loin que l'origine des canaux sécréteurs des Guttifères (Clusiacées) est tout à fait différente quand ces canaux se développent dans le cylindre central de la racine.

Tigelle. — Si l'on examine une coupe transversale faite au milieu d'une tigelle de l'*Hypericum perforatum*, on observe un épiderme et une écorce pareils à l'épiderme et à l'écorce d'une tigelle plus jeune qui ont été décrits plus haut. L'endoderme, ici, présente des plissements plus nets. Dans le cylindre central, (Pl. V, fig. 4) on constate que le péricycle présente des cellules en division en face de chacun des deux faisceaux ligneux. Ces faisceaux ligneux sont formés chacun d'abord par deux vaisseaux à disposition alterne, confluents en une bande diamétrale par la formation d'un vaisseau primaire qui occupe l'axe du cylindre central. De part et d'autre de cette bande de tissu ligneux, on observe d'autres vaisseaux intermédiaires et superposés au liber. Entre le liber et le bois, des cloisonnements secondaires se montrent formant l'assise génératrice.

(1) *Loc. cit.*

Digitized by Google

Au point de vue de l'appareil sécréteur, cette figure nous montre les canaux sécréteurs primaires d'origine péricyclique situés chacun de part et d'autre de chaque faisceau libérien ; dans ce cas particulier un des faisceaux libériens possède deux canaux de chaque côté, cela tient à ce que de chaque côté une cellule péricyclique, par deux divisions successives, a donné naissance à deux canaux sécréteurs.

Enfin, l'examen de coupes faites un peu plus haut nous fait voir la disparition des vaisseaux primaires qui formaient la bande vasculaire médiane, laissant à leur place sur un certain parcours une lacune médiane, qui sera comblée par les nouveaux éléments qui se forment. L'assise génératrice fonctionne avec activité, de grands vaisseaux superposés à différenciation centrifuge se formeront et la structure secondaire s'établit.

La structure du cotylédon ne diffère pas sensiblement de celle d'une plantule plus jeune.

Plantule très âgée. — Prenons maintenant une plantule d'*Hypericum perforatum* plus âgée encore, dont la jeune tige porte trois ou quatre paires de feuilles opposées.

La tigelle (Pl. VI, fig. 9) a son épiderme et son écorce en voie d'exfoliation par suite de la formation du périderme qui est d'origine péricyclique. L'endoderme subit de nombreux cloisonnements dans le sens radial et suit ainsi, au début, l'épaississement de la tigelle ; il n'est exfolié que plus tard. Le cylindre central, très développé, est occupé par un gros cordon fibreux et vasculaire central où toute trace de la structure antérieure, binaire avec disposition alterne, a disparu. Le liber forme un anneau continu. Les canaux sécréteurs sont abondants, soit dans le liber secondaire, soit dans le péricycle qui est plurisérié. Le liber primaire, écrasé, a disparu.

L'origine péricyclique du périderme des Hypéricacées dans la tige a déjà été observée par MM. Van Tieghem (1), Morot (2), Douliot (3), Weill (4), mais n'avait jamais été étudiée dans la tigelle.

(1) Van Tieghem, *Second mémoire sur les canaux sécréteurs*, p. 53.
(2) Morot, *Recherches sur le péricycle* (Ann. Sc. nat., 6e série, t. XX, 1884).
(3) Douliot, *Recherches sur le périderme* (Ann. Sc. nat., 7e série, t. X, 1889).
(4) Weill, *Recherches histologiques sur la famille des Hypéricacées* (Thèse de Pharmacie, Paris, 1903).

Digitized by Google

Haronga.

Embryon.

L'embryon de l'*Haronga paniculata* Pers. (*H. madagascarensis* Chois.), seule espèce du genre d'après Engler, est très petit et mesure à peine un millimètre de longueur; il est ovoïde, allongé, souvent légèrement arqué. Cet embryon présente une très petite radicule, une tigelle assez développée et deux cotylédons qui forment un peu plus de la moitié de l'embryon. Les cotylédons sont libres, semi-cylindriques, plus ou moins aplatis.

Comme celui des *Hypericum*, l'embryon d'*Haronga* est riche en substances oléagineuses. Toutes les cellules de cet embryon, et surtout les cellules corticales, ont un protoplasme granuleux avec de fines gouttelettes oléagineuses.

Pour étudier la structure de cet embryon, pratiquons des coupes en série en partant de la région radiculaire jusque dans les cotylédons.

Radicule. — Une coupe transversale dans la radicule nous montre seulement une écorce ayant les cellules disposées en séries radiales et un cylindre central dans lequel l'appareil conducteur n'est pas différencié.

Tigelle. — La tigelle présente un épiderme recouvert d'une mince cuticule, en dedans duquel l'écorce forme sept à huit assises de cellules; dans l'assise la plus extérieure, immédiatement sous l'épiderme, on observe six canaux sécréteurs bien formés. Ces canaux sécréteurs naissent par voie schizogène; une cellule sous-épidermique se divise en deux, puis en quatre cellules sécrétrices, puis chacune de ces cellules se divise ensuite tangentiellement. Les mêmes divisions s'opèrent ainsi sur six files longitudinales de cellules sous-épidermiques de telle sorte qu'il se forme six canaux sécréteurs. L'endoderme est dépourvu de plissements; certaines de ses cellules sont divisées tangentiellement.

Le cylindre central est, contrairement à la radicule, pourvu d'un appareil conducteur différencié; sous un péricycle simple se trouvent deux faisceaux libériens représentés chacun par un tube criblé et deux faisceaux ligneux alternes représentés chacun par un ou deux vaisseaux.

Digitized by Google

Des coupes transversales menées de plus en plus vers le haut de la tigelle montrent que les faisceaux ligneux se continuent dans le même plan vertical, et pénètrent ainsi dans les cotylédons; quant aux faisceaux libériens représentés primitivement chacun par un tube criblé, on voit, à mesure qu'on monte vers le haut à côté du premier tube criblé, apparaître un second tube criblé, de sorte que chaque faisceau libérien est représenté par deux tubes criblés; ceux-ci, en se différenciant sur place, sont de plus en plus écartés l'un de l'autre et séparés par un nombre de plus en plus grand de cellules de conjonctif à mesure qu'on s'approche du nœud cotylédonaire; ces deux tubes criblés correspondant en quelque sorte chacun à un demi-faisceau libérien, se rapprochent ainsi des faisceaux ligneux.

Cotylédon. — Dans une coupe transversale pratiquée dans les deux cotylédons vers leur base on retrouve, dans chaque cotylédon, le faisceau ligneux qui a parcouru la tigelle et qui est entré dans le cotylédon; alternant avec ce faisceau ligneux, de part et d'autre, il y a un tube criblé qui représente le demi-faisceau libérien de la tigelle.

Germination.

Le mode de germination de cet embryon est semblable à celui des *Hypericum*. La radicule sort par une déchirure du tégument de la graine dans la région micropylaire, la tigelle s'allonge aussitôt très vite et présente à sa base comme dans les plantules d'*Hypericum* un renflement indiquant la limite entre la tigelle et la radicule. A la base de ce renflement, on voit une couronne de poils absorbants qui apparaissent de bonne heure et persistent assez longtemps. Les cotylédons, pendant l'allongement de la tigelle, restent encore enfermés dans le tégument de la graine, mais bientôt, en s'accroissant, rejettent le tégument et finissent par s'épanouir. Ces cotylédons sont courtement pétiolés, de forme ovoïde, très souvent cordiformes et alors un peu bifides à leur extrémité.

Plantule jeune. — ***Racine.*** — La structure de la racine principale est la même que celle d'un *Hypericum perforatum* ou d'un *Hypericum calycinum*. On y trouve le même cylindre

Digitized by Google

central avec structure binaire et canaux sécréteurs d'origine péricyclique.

Tigelle. — La tigelle d'une plantule très jeune, dont les cotylédons ne sont pas encore bien épanouis, présente, en section transversale, un contour plus ou moins polygonal; l'épiderme a, de distance en distance, des cellules saillantes formant de petites papilles (Pl. VIII, fig. 16).

L'écorce est formée de cinq ou six assises de cellules : dans l'assise la plus externe, sous-épidermique, se trouvent toujours six canaux sécréteurs. Chaque canal sécréteur présente des cellules sécrétrices dédoublées tangentiellement ou, autrement dit, a une lumière entourée par deux assises de cellules sécrétrices. Les cellules de l'écorce ont une forme plus ou moins arrondie et laissent entre elles de petits méats; leur membrane est inégalement épaissie. L'endoderme présente des plissements très caractéristiques.

Le cylindre central est limité par une assise péricyclique. Cette assise est dédoublée en face de chacun des deux faisceaux ligneux. L'appareil conducteur a une disposition alterne du bois et du liber; on observe deux faisceaux libériens comptant chacun cinq à six tubes criblés. Alternant avec ces deux faisceaux libériens, il y a deux faisceaux ligneux, formés chacun par quatre ou cinq vaisseaux qui, se touchant entre eux, confluent en une bande diamétrale. Dans ce cylindre central, les canaux sécréteurs n'ont pas encore fait leur apparition, on verra qu'ils se développent un peu plus tard.

Dans la région supérieure de la tigelle, au voisinage des cotylédons, les deux faisceaux libériens se séparent chacun en deux groupes qui s'écartent de plus en plus l'un de l'autre en se rapprochant des faisceaux ligneux. J'ai figuré (Pl. VIII, fig. 17) la structure du cylindre central dans cette région : on distingue nettement les quatre demi-faisceaux libériens ; on remarque aussi, que dans les faisceaux ligneux, les vaisseaux alternes ont disparu, que des vaisseaux intermédiaires ont apparu et que des vaisseaux superposés sont en voie de différenciation ; cette disparition des vaisseaux alternes est toute récente car la place de ces vaisseaux est encore indiquée par des lacunes. On remarque également, entre les deux demi-faisceaux libériens, à gauche

Digitized by Google

de la figure, la différenciation d'un tube criblé, et d'un vaisseau de bois en superposition avec lui : c'est la première apparition d'un faisceau caulinaire.

Sur des coupes transversales pratiquées de plus en plus près du nœud cotylédonaire, il est à remarquer que, dans un faisceau ligneux, les vaisseaux alternes et intermédiaires s'arrêtent dans leur développement au nœud cotylédonaire de sorte que dans le cotylédon correspondant on ne trouve que des vaisseaux secondaires; dans l'autre faisceau, au contraire, les vaisseaux alternes disparaissent mais les vaisseaux intermédiaires persistent encore, et on les retrouve à la base dans le cotylédon correspondant.

Cotylédon. — Une coupe transversale faite dans la même plantule à la base des cotylédons dans les pétioles cotylédonaires (Pl. VIII, fig. 18) nous fait voir dans un cotylédon, outre quelques vaisseaux superposés, les deux vaisseaux intermédiaires de la tigelle et entre eux la lacune occupant la place des vaisseaux alternes qui ont disparu. Dans l'autre cotylédon il n'y a que des vaisseaux secondaires. La disposition de l'appareil conducteur est donc superposée dans les deux cotylédons, seulement dans un des deux, le développement de cet appareil a été un peu plus lent.

L'épiderme de ces pétioles cotylédonaires est papilleux comme celui de la tigelle; les canaux sécréteurs sous-épidermiques s'y retrouvent également.

Plantule âgée. — Nous avons dit que les canaux sécréteurs dans le cylindre central ne sont pas aussi précoces que dans les *Hypericum*; pour les observer, il faut examiner une tigelle qui ait les cotylédons bien épanouis et les premières feuilles commençant à se montrer. En suivant de près leur mode de formation, on constate qu'ils ont une origine péricyclique, comme dans les *Hypericum*.

Faisons une coupe transversale au milieu de cette tigelle. Cette coupe (Pl. VIII, fig. 19) nous fait voir, dans le cylindre central, un appareil sécréteur bien représenté par des canaux sécréteurs résultant chacun de la division d'une cellule péricyclique. Ces canaux sécréteurs sont disposés de part d'autre de chaque faisceau libérien. La disposition de l'appareil conducteur à ce niveau est alterne.

Digitized by Google

En alternance avec les faisceaux libériens, il y a deux faisceaux ligneux ; ces faisceaux ligneux sont formés chacun par des vaisseaux alternes à différenciation centripète, des vaisseaux intermédiaires et des vaisseaux à différenciation centrifuge, superposés au liber. De part et d'autre, entre le bois et le liber, des cloisonnements secondaires se montrent formant l'assise génératrice.

Au fur et à mesure qu'on monte vers le haut de la tigelle, on observe que cette assise génératrice fonctionne avec activité (1). On observe aussi la disparition des vaisseaux alternes, dont la place est indiquée par une lacune, et la formation de nouveaux vaisseaux superposés au liber. En ce qui concerne les deux faisceaux libériens, on les voit se continuant chacun en deux demi-faisceaux qui s'écartent de plus en plus ; entre ces deux demi-faisceaux se trouve un faisceau caulinaire (Pl. VIII, fig. 20). Les canaux sécréteurs se continuent aussi, mais, par suite du grand développement des tubes criblés, ils sont englobés dans le liber.

Enfin, plus haut encore, dans une coupe pratiquée tout près des cotylédons (Pl. IX, fig. 22), on voit les faisceaux caulinaires bien formés et, dans les deux faisceaux ligneux qui vont pénétrer chacun dans un cotylédon, on observe la disparition complète des vaisseaux primaires (leur place est seulement encore indiquée par une lacune) et la présence de vaisseaux superposés secondaires. L'assise génératrice fonctionne entre le bois et le liber ; la structure secondaire est bien établie et on peut voir, en effet, dans le cotylédon âgé (Pl. VIII, fig. 21) que la disposition de l'appareil conducteur y est nettement superposée ; le liber forme toujours deux petits faisceaux en dedans desquels s'observent des files radiales de petits vaisseaux d'origine secondaire. Le liber est recouvert extérieurement par une gaine formée par une assise de petites cellules différentes des cellules du parenchyme voisin. L'épiderme d'un

(1) On voit que l'appareil conducteur a, comme dans *Hypericum*, un développement de plus en plus accéléré à mesure qu'on s'éloigne de la radicule. Ce développement se traduit par le plus grand nombre des éléments libériens, par la réduction progressive des vaisseaux primaires et par l'apparition de plus en plus hâtive des formations secondaires. C'est ce que M. Chauveaud a appelé *accélération basifuge* (Bull. Soc. Bot. France, t. LIII, 1906, p. 374).

Digitized by Google

tel cotylédon diffère de celui des cotylédons d'*Hypericum* par la présence de nombreuses papilles. Le limbe de ce cotylédon est pourvu de poches sécrétrices vers les bords, et de canaux sécréteurs sous l'épiderme inférieur au voisinage de la nervure (Pl. VII, fig. 14); sous l'épiderme supérieur, on observe une assise palissadique nette. Dans la nervure, on observe une disposition superposée du bois et du liber.

Il est à remarquer que dans ces plantules on peut tracer facilement la limite entre la racine et la tigelle non seulement par l'épiderme et par le petit renflement de la base de la tigelle, mais aussi par l'appareil sécréteur qui est représenté dans la tigelle par six canaux sous-épidermiques qui ne passent pas dans la racine.

RÉSUMÉ DES HYPÉRICACÉES

L'étude des genres *Hypericum* et *Haronga* qui constituent deux types différents d'Hypéricacées, montre que les embryons et les plantules en germination présentent une série de caractères spéciaux.

Les embryons, très petits, contiennent dans leurs cellules toutes les substances de réserve nécessaires à la germination. Ces embryons ont une tigelle plus ou moins longue, non tuberculisée, et portant deux petits cotylédons. Lors de la germination, la tigelle s'allonge très vite, puis les cotylédons s'épanouissent tandis que la radicule se développe et devient la racine principale de la plante. Ce mode de germination se rapproche de celui que nous retrouverons dans les Clusiées parmi les Guttifères.

L'appareil conducteur de l'embryon est à peine différencié ; on n'observe de vaisseaux ligneux et de tubes criblés à peine formés que dans la partie supérieure de la tigelle et que dans les cotylédons à la base. Ces éléments ne sont pas différenciés dans la plus grande partie des cotylédons, dans la moitié inférieure de la tigelle et dans la radicule.

L'embryon est dépourvu de canaux sécréteurs péricycliques ; ceux-ci n'apparaissent qu'au moment de la germination. La tigelle du genre *Haronga* possède des canaux sécréteurs sous-épidermiques. Les cotylédons des *Hypericum* ont, dès le début

Digitized by Google

de la germination, de petites poches sécrétrices ébauchées qui manquent dans l'*Haronga* à ce stade.

Dans les plantules, la racine principale est toujours binaire: elle possède toujours des canaux sécréteurs et un périderme d'origine péricyclique; elle est dépourvue de canaux sécréteurs corticaux.

La tigelle d'une plantule en germination a un cylindre central avec une structure binaire; l'appareil conducteur a une disposition alterne du bois et du liber. Il y a toujours des canaux sécréteurs péricycliques; mais ceux-ci apparaissent plus tardivement dans le genre *Haronga* que dans le genre *Hypericum*. Il n'y a jamais de canaux sécréteurs corticaux dans la tigelle des *Hypericum*, même dans les espèces qui en possèdent dans leur tige. Dans le genre *Haronga*, il y a des canaux sécréteurs sous-épidermiques. Le périderme est d'origine péricyclique.

Les cotylédons présentent un appareil conducteur à disposition superposée dans le genre *Hypericum*. Dans le genre *Haronga*, tout à fait au début de la germination, le bois et le liber sont alternes; plus tard, les vaisseaux alternes disparaissent et de nouveaux vaisseaux se forment en superposition avec le liber. Il y a des poches sécrétrices sur le pourtour du limbe et des canaux sécréteurs au voisinage de la nervure. Dans l'*Haronga* les cotylédons ont en outre, dans leur pétiole, des canaux sécréteurs sous-épidermiques semblables à ceux de la tigelle.

Il y a toujours au sommet des cotylédons, à l'extrémité de la nervure médiane, un stomate aquifère, de structure normale, qui est déjà ébauché dans l'embryon seulement gonflé par l'eau.

La limite de la tigelle et de la radicule est indiquée par l'interruption de l'épiderme et des canaux sécréteurs corticaux, qui dans la tigelle de l'*Haronga* ne passent pas dans la racine. La structure de ces deux membres est semblable au point de vue de l'appareil conducteur. Au sommet de la tigelle, chaque faisceau libérien se continue en deux moitiés qui s'écartent l'une de l'autre et passent dans le cotylédon correspondant, les vaisseaux alternes s'atrophient et les vaisseaux de formation secondaire superposés, seuls, subsistent dans les cotylédons.

Les vaisseaux de la tige sont en continuité avec des vaisseaux d'origine secondaire de la tigelle.

Digitized by Google

GUTTIFÈRES

Dans cette famille (1) je distinguerai avec Planchon et Triana trois types d'embryons. On verra que ces trois types d'embryons qui caractérisent des tribus, se distinguent non seulement par leur morphologie, mais aussi par leur mode de germination, chaque type ayant un mode de germination qui lui est propre.

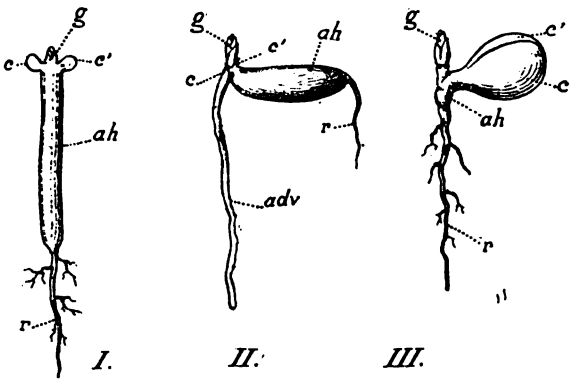


Fig. 1. — Schéma représentant le mode de germination des trois types d'embryons de Guttifères. — I. *Clusiées* : la tigelle s'allonge, les cotylédons petits deviennent foliacés, la radicule devient la racine principale de l'arbre. — II. *Moronobées, Garciniées* : la tigelle tuberculisée ne s'allonge pas; les cotylédons restent écailleux; une racine adventive, développée à la base de la tige, devient la racine principale de l'arbre. — III. *Calophyllées* : les cotylédons sont tuberculisés et présentent un pétiole net; la tigelle est réduite, la radicule devient racine principale de l'arbre; *ah*, tigelle; *c'c'*, cotylédons; *r*, radicule; *g*, gemmule: *adv*, racine adventive.

Ainsi, le premier type d'embryon, à radicule petite, à tigelle grosse et à cotylédons petits, caractérisera la tribu des *Clusiées*. Pendant la germination, la radicule donne la racine principale, la tigelle s'allonge et les petits cotylédons s'accroissent et deviennent foliacés. Sur cette tigelle allongée, vers la base, on observe des racines adventives, mais, contrairement à ce qui advient dans d'autres types, jamais le rôle de racine principale ne semble dévolu à ces racines adventives (fig. 1, I).

Le second type d'embryon présente une tigelle énorme, tuberculisée, avec une radicule très réduite et des cotylédons

(1) Planchon et Triana dans leur important mémoire admettaient les Quiinées comme cinquième tribu des Guttifères. Mais les *Quiina* doivent être exclus des Guttifères : ils forment une petite famille à part (Voy. Van Tieghem, *Canaux sécréteurs des plantes*, Ann. Sc. nat., 7e série, t. I, 1885, p. 38, et les *Éléments de Botanique*, 4e édition, t. II, p. 642; voir aussi Engler *Pflanzenfam.*). Pour la classification des Guttifères, voir l'excellente monographie de Vesque, *Guttiferæ*, A. et C. de Candolle, *Monogr. Phan.*, vol. VIII, 1893.

Digitized by Google

extrêmement petits. Ces cotylédons sont écailleux, imbriqués et protègent le sommet de la gemmule. Ce second type d'embryon présente un mode de germination tout à fait différent de celui du premier type. Ici la radicule est transitoire et la racine principale de l'arbre provient d'une première racine adventive née à la base de la jeune tige. La tigelle ne s'accroît et ne s'allonge pas et les cotylédons s'épanouissent mais ne prennent jamais l'aspect foliacé comme ceux du premier type, ils restent toujours écailleux ; la jeune tige pousse très vite et les premières feuilles formées sont très réduites, écailleuses; ce n'est qu'après la formation de deux ou trois verticilles de feuilles écailleuses que les deux premières feuilles semblables aux feuilles de l'arbre se forment. Ce second type caractérise les tribus des *Moronobées* et des *Garciniées* (fig. 1, II).

Dans le troisième type d'embryon, la tigelle est très réduite, la radicule est extrêmement petite, mais les cotylédons prennent un développement considérable, deviennent tuberculeux et accumulent des matériaux de réserve ; ce sont donc ici les cotylédons, et non la tigelle, qui contiennent les réserves nécessaires au développement ultérieur de la plante.

Par le mode de germination ce troisième type diffère aussi des deux précédents. En effet, ici, la radicule forme la racine principale de l'arbre comme dans le premier type, mais la tigelle ne s'allonge que très peu et les cotylédons restent toujours accolés et enfermés dans le tégument de la graine; seuls les pétioles cotylédonaires sortent du tégument en s'écartant un peu pour laisser libre passage à la gemmule qui se développera rapidement en une jeune tige avec premières feuilles écailleuses comme dans le type précédent.

Ce troisième type d'embryon caractérise la tribu des *Calophyllées* (fig. 1, III).

PREMIER TYPE

Embryon

J'ai étudié comme exemple du premier type l'embryon de *Clusia rosea* (1).

(1) Les graines de *Clusia rosea* proviennent de la Guadeloupe. Elles ont été envoyées à M. le Professeur J. Costantin, par le Révérend Père Duss.

Digitized by Google

L'embryon de *Clusia rosea* est cylindrique, mesurant en général 7 à 8 millimètres de longueur et 2 millimètres de largeur. La radicule est très petite, la tigelle forme la presque totalité de l'embryon, elle est cylindrique et surmontée d'un mamelon formé de deux cotylédons très petits mais bien distincts.

Une coupe transversale (fig. 23, Pl. IX) faite au milieu de la tigelle d'un embryon non germé nous fait voir un épiderme à cellules petites, remplies toutes de produits de sécrétion, une écorce bien développée, bourrée de substances grasses et dépourvue d'amidon; des méats de forme triangulaire sont ménagés entre les cellules corticales. Ces méats sont également remplis de produits de sécrétion.

L'écorce présente deux cercles de canaux sécréteurs; le premier cercle, placé immédiatement sous l'épiderme, est formé en général de 25 à 30 canaux sécréteurs (1), le second, plus profond, situé au milieu de l'écorce, est formé en général de 5 à 6 canaux sécréteurs.

M. Van Tieghem (2), en décrivant l'embryon de *Clusia rosea*, n'indique dans l'écorce de cet embryon qu'un seul cercle de canaux sécréteurs.

Sur une dizaine d'embryons de *Clusia rosea* dont j'ai étudié la structure, j'en ai trouvé huit possédant un second cercle de canaux sécréteurs formé de 5 à 6 canaux et sur deux embryons seulement, le second cercle était réduit à 2 canaux sécréteurs. L'absence du cercle interne de canaux sécréteurs me semble anormale dans l'espèce que j'ai étudiée.

L'écorce est limitée à l'intérieur par un endoderme très net.

Le cylindre central ne présente pas de canaux sécréteurs et l'appareil conducteur n'est pas encore différencié. On remarque seulement une ébauche de quatre faisceaux libériens.

Une coupe longitudinale axiale (Pl. IX, fig. 24) d'un tel

(1) Mlle Leblois, dans ses *Recherches sur l'origine et le développement des canaux sécréteurs et des poches sécrétrices* (Ann. Sc. nat., 7e série, t. VI, p. 289, fig. 85) donne une figure d'un canal sécréteur de la tigelle de *Clusia rosea*.

(2) Ph. Van Tieghem, *Second mémoire sur les canaux sécréteurs des plantes* (Ann. Sc. nat., 7e série, t. I, 1885, p. 41. On sait qu'il existe, d'après Vesque, trois espèces qui ont été appelées *Clusia rosea* : *Clusia rosea* L., *Clusia grandiflora* Splitg. (*Cl. rosea* Ch. Lemaire) et *Clusia Hilariana* Schlecht (*Cl. rosea* Cambess.). M. Van Tieghem a peut-être examiné une espèce différente de celle que j'ai étudiée.

Digitized by Google

embryon est intéressante parce qu'elle nous montre la différenciation précoce de l'appareil sécréteur qui est représenté par des canaux sécréteurs prenant naissance tout près des cellules initiales de l'écorce de la radicule, bien avant la différenciation de l'appareil conducteur.

Les canaux sécréteurs, dont on a vu l'origine au voisinage des initiales de l'écorce, se continuent en ligne droite dans la racine et tout le long de la tigelle jusqu'à l'extrémité des cotylédons, comme le montre la figure 24 de la planche IX.

Dans les cotylédons d'un embryon non germé, l'appareil conducteur est déjà bien ébauché, mais pas encore différencié (Pl. IX, fig. 25).

On trouve dans les cotylédons, de même que dans la radicule et dans la tigelle, des substances graisseuses en grande quantité, répandues dans toutes les cellules et, par-ci par-là, des cellules remplies de substances oléorésineuses jaunâtres. Ces substances se trouvent surtout en grande abondance dans les cellules épidermiques.

Enfin, dans cette même coupe axiale (Pl. IX, fig. 25), on voit, au sommet de la tigelle, dans l'écorce, des méats sécréteurs et, dans deux de ces méats, à gauche du cylindre central, on distingue encore des produits de sécrétion qui ont été noircis et durcis par le fixateur Flemming. Avec l'orcanette acétique le contenu de ces méats présente la couleur caractéristique des produits de sécrétion.

Germination.

Je ne peux, à mon grand regret, donner aucune indication sur le mode de germination du *Clusia rosea* dont je viens d'étudier la structure. J'ai mis des graines en germination dans les serres du Muséum et, sous châssis chaud, au laboratoire de Biologie végétale de Fontainebleau et pas une seule ne s'est developpée.

M. le Professeur Costantin m'a aimablement fait parvenir des plantules un peu âgées de *Clusia minor* L. qui avaient trois paires de feuilles opposées; je pourrai donc, tout au moins, donner quelques détails sur la morphologie de ces plantules. On constate, tout d'abord, que c'est la radicule qui

Digitized by Google

devient la racine principale de la plante ; dans mes échantillons, la tigelle avait 30 millimètres de long et les cotylédons, un peu réniformes, étaient foliacés avec un pétiole cotylédonaire très court mais distinct. Chaque cotylédon mesurait environ 25 millimètres carrés. Quelques grêles racines adventives prenaient naissance à la base de la tigelle.

La racine principale nous montre, en coupe transversale, une écorce bien développée dans laquelle on observe, outre un cercle de canaux sécréteurs situés dans la troisième assise en dedans de l'assise pilifère, un début de périderme d'origine périphérique prenant naissance sous l'assise pilifère. Le périderme se forme donc ici de la même manière que dans la racine de *Clusia flava* dont M. Van Tieghem a donné la description (1).

Dans le cylindre central, les formations secondaires sont développées, il y a quatre faisceaux libériens et quatre faisceaux ligneux ; ce cylindre central est dépourvu de canaux sécréteurs.

Dans la tigelle âgée, l'écorce présente un cercle de canaux sécréteurs, situés vers la périphérie. Le périderme est bien formé et a une origine très superficielle. Dans le cylindre central, on constate la trace de quatre faisceaux ligneux primaires qui ont disparu ; dans le liber il n'y a pas de canaux sécréteurs alors qu'il y en avait dans le liber de la racine.

Dans les cotylédons âgés, on observe dans le pétiole une nervure avec le bois superposé au liber formant un arc à convexité dorsale dans lequel il semble qu'on doive distinguer deux faisceaux.

DEUXIÈME TYPE

J'ai étudié dans ce deuxième type les genres : *Symphonia* L., *Allanblackia* Oliv. et *Pentadesma* Sabine parmi les Moronobées et, dans le genre *Garcinia*, les deux sous-genres *Xanthochymus* Roxb. et *Eugarcinia* Vesque parmi les Garciniées.

Symphonia globulifera L.

Embryon.

L'embryon est représenté par une énorme tigelle tubercu-

(1) Ph. Van Tieghem, *Recherches sur la symétrie de structure des plantes vasculaires*. Premier mémoire : *La racine* (Ann. Sc. nat., 5e série, t. XIII, 1870, p. 260), et *Traité de Botanique*, 2e édition, p. 716.

Digitized by Google

lisée, par une radicule extrêmement petite et par des cotylédons réduits à de minuscules écailles; la gemmule est bien développée.

L'embryon est globoïde, réniforme, mesurant d'habitude 35 millimètres de longueur, 20 à 25 millimètres de largeur et 18 à 20 millimètres d'épaisseur. Il présente une surface parcourue par de grands sillons assez profonds disposés parallèlement suivant sa longueur. Ces grands sillons, de place en place, sont reliés entre eux par des sillons obliques.

L'examen de coupes transversales menées au milieu de la tigelle d'un embryon non germé montre tout d'abord un grand nombre de canaux sécréteurs épais pouvant s'anastomoser et se ramifier et, ensuite, la présence d'une grande quantité de substances graisseuses tant dans la région corticale que dans la région médullaire.

L'épiderme est formé de petites cellules recouvertes d'une cuticule très mince.

La région corticale, bien développée, est représentée par des cellules polyédriques contenant des substances graisseuses solidifiées et cristallisées en un paquet de fines aiguilles, comme dans l'embryon de *Garcinia sizygiifolia* dont on lira plus loin la description.

Tant dans le parenchyme cortical que dans le parenchyme médullaire, on trouve des canaux sécréteurs qui commencent à s'oblitérer : les cellules sécrétrices s'hypertrophiant se divisent activement, remplissent bientôt toute la cavité du canal et, par ce fait, ce canal sécréteur cesse de fonctionner; pendant ce temps, d'autres canaux sécréteurs se forment, surtout près du liber, mais aussi dans la région médullaire de l'embryon.

On voit donc combien la fonction sécrétrice est active dans l'embryon de cette Moronobée et, avant même que l'embryon germe, on assiste à la disparition de certains canaux sécréteurs et à la formation de nouveaux canaux.

L'appareil conducteur est disposé suivant un cercle, exactement comme dans la tigelle d'*Allanblackia Sacleuxii* que nous allons voir plus loin. Il y a un cercle continu de tubes criblés, au-dessous desquels se trouvent, de place en place et assez rapprochés, des groupes de vaisseaux. De distance en distance, on

Digitized by Google

voit aussi, en dedans des tubes criblés et des vaisseaux, dans la région périmédullaire, de petits canaux sécréteurs nouvellement formés.

Germination.

Malgré la grande quantité de graines mises à germer, je n'ai pu, pendant longtemps, obtenir aucune plantule; il y avait toujours un commencement de germination qui se manifestait par la sortie de la gemmule, mais le développement ultérieur était arrêté.

En faisant une coupe axiale longitudinale dans la partie radiculaire de ces embryons qui présentaient un début de germination, j'ai toujours observé la formation d'un liège au sommet de la radicule sur l'emplacement même des initiales de la racine. Il y avait donc une destruction du méristème terminal de la radicule et par conséquent un arrêt dans le développement de cette radicule.

C'est seulement pendant l'impression de ce travail que j'ai pu enfin étudier les plantules développées qui me furent aimablement envoyées par M. Costantin; le temps m'a manqué pour faire une étude approfondie de ces plantules, mais je pense qu'il est utile de décrire brièvement leur structure.

Le mode de germination est conforme au deuxième type dont j'ai déjà parlé : la radicule se développe, donne d'assez nombreuses radicelles, mais sa croissance est très vite dépassée par celle d'une racine adventive qui se forme à la base de la jeune tige ; les premières feuilles de cette jeune tige sont écailleuses; la tigelle et les cotylédons ne s'accroissent sensiblement pas.

La radicule, près du sommet, montre, sous l'assise pilifère, une assise subéreuse tout à fait semblable à celle du *Xanthochymus pictorius* décrit plus loin. L'écorce est formée de cellules arrondies présentant entre elles des méats, et contenant de place en place, des mâcles en oursins; l'endoderme présente des plissements nets. Le cylindre central comprend, sous un péricycle dédoublé en face des faisceaux du bois, huit faisceaux ligneux formés de un ou deux vaisseaux et huit faisceaux libé-

Digitized by Google

riens alternes, comptant de trois à cinq tubes criblés. Vers sa base, cette racine possède une moelle complètement sclérifiée et des canaux sécréteurs ont apparu, dans le liber, avec les formations secondaires libéroligneuses.

La racine adventive diffère de la racine principale par le plus grand nombre de faisceaux libériens et ligneux (quatorze) et par la présence, en dedans de l'assise subéreuse, dans les assises corticales les plus externes, de cellules sclérifiées. Les canaux sécréteurs se développent, comme dans la racine, avec les formations secondaires. Le périderme est d'origine superficielle.

La tigelle ne diffère pas comme structure de la tigelle de l'embryon ; on y retrouve les mêmes corps gras cristallisés en longues et fines aiguilles. Les formations secondaires sont plus développées dans les faisceaux qui sont distincts.

Allanblackia Sacleuxii Hua (1).

Embryon.

Une énorme tigelle tuberculisée constitue la presque totalité de l'embryon ; la radicule est très petite et les cotylédons sont écailleux et extrêmement réduits. L'embryon mesure 35 à 40 millimètres de longueur, 25 millimètres de largeur et 15 à 20 millimètres d'épaisseur.

Un fait caractéristique au point de vue de la structure de cet embryon non germé, est la présence d'un périderme d'origine sous-épidermique (Pl. IX, fig. 26). Ainsi la tigelle se trouve protégée de très bonne heure. Les petites cellules épidermiques de cette tigelle possèdent une cuticule très mince. La région corticale est représentée par des cellules de forme hexagonale, leurs membranes présentent des épaississements inégaux.

Toutes les cellules corticales sont remplies de substances grasses solides et cristallisées de la même manière que les substances grasses de l'embryon de *Garcinia sizygiifolia* (Pl. XIII, fig. 55).

(1) Espèce due au R. P. Sacleux et originaire de l'Afrique tropicale (Zanguebar); elle a été décrite par M. Hua en 1896 (Bull. du Mus. d'Hist. nat. de Paris, n° 4).

Digitized by Google

Un cercle de canaux sécréteurs se trouve dans la troisième ou quatrième assise sous-épidermique. Ces canaux sécréteurs sont très petits, de la même taille qu'une cellule corticale. Les cellules sécrétrices sont au nombre de 8 à 10; leur taille est extrêmement réduite et elles ont des membranes très minces.

L'assise endodermique n'est pas reconnaissable, de même que le péricycle; la limite entre l'écorce et le cylindre central ne peut être tracée que grâce au cercle continu de liber, en dessous duquel se trouvent, de place en place, des groupes de quatre à huit vaisseaux (Pl. IX, fig. 27). A l'intérieur de ce cercle, la région médullaire est presque semblable par ses cellules à la région corticale. La membrane des cellules de la moelle présente les mêmes épaississements et les mêmes ponctuations que celles de l'écorce.

Le parenchyme médullaire contient, comme le parenchyme cortical, beaucoup de substances oléagineuses solidifiées et cristallisées.

On extrait des embryons d'*Allanblackia* une sorte de beurre connu sous le nom de *beurre de Bouandja* (1).

Germination.

Le mode de germination d'*Allanblackia Sacleuxii* Hua est tout à fait semblable à celui de *Xanthochymus* (dont je donnerai plus loin la description détaillée) et de toutes les autres Garciniées.

Pendant la germination, la grosse tigelle reste à peu près de même dimension. Par les réserves qu'elle renferme, elle joue un rôle nutritif pendant le développement de la plante. La germination débute par l'allongement de la radicule, tandis qu'au pôle opposé, une jeune tige commence à pousser. A la base de cette tige et tout près de la grosse tigelle, naît une racine adventive.

C'est cette racine adventive qui plus tard constituera la racine principale de la plante adulte.

Grâce à l'obligeance de M. le Professeur J. Costantin, j'ai eu

(1) Voy. Edouard Heckel, *Sur les graines de l'Allanblackia et sur le beurre de Bouandja qu'elles contiennent* (C. R., t. CXXVIII, 1899, p. 460 462).

Digitized by Google

à ma disposition un pied d'*Allanblackia Sacleuxii* âgé de trois ans. La plante a germé dans les serres du Muséum, elle a été conservée dans l'alcool après sa mort. J'ai pu très bien étudier la structure de la tigelle, la structure secondaire de la radicule et celle de la racine adventive.

Les jeunes parties des racines (radicule et racine adventive) étaient détériorées et je n'ai pu malheureusement voir leur structure primaire.

En faisant une coupe transversale (Pl. IX, fig. 28) au milieu de cette tigelle âgée de trois ans, on constate le grand développement de l'appareil conducteur : les vaisseaux du bois sont sériés et séparés par des rayons médullaires. Un très grand nombre de tubes criblés se sont formés, et, en même temps, on constate de nombreux canaux sécréteurs à tous les stades de développement qui se forment tout autour du liber. Tous ces canaux sécréteurs sont schizogènes et tous, dans cette région, se sont formés pendant la germination, car, dans l'embryon non germé, ils existaient seulement dans la région corticale la plus externe et en nombre très restreint.

Les coupes transversales menées dans la radicule et dans la racine adventive (future racine principale) nous montrent la présence de canaux sécréteurs dans le liber; par contre, dans l'écorce, ils font totalement défaut.

Dans la racine, le périderme est d'origine superficielle.

Pentadesma butyracea Sabine.

Embryon.

Comme il a été dit dans la partie historique de ce travail, l'embryon de *Pentadesma butyracea* a fait l'objet d'une étude de la part de M. Ph. Van Tieghem.

M. Van Tieghem décrit un appareil sécréteur diffus, qu'il a trouvé le premier dans cet embryon non germé. J'ai reproduit cette description plus haut dans l'historique.

L'embryon de *Pentadesma* est représenté par une énorme tigelle tuberculisée, constituant à elle seule presque tout l'embryon. La radicule est très petite et les deux cotylédons, très

Digitized by Google

réduits, forment de petites écailles bien visibles qui protègent la gemmule.

L'embryon mesure 40 à 45 millimètres de longueur, 25 à 30 millimètres de largeur et 10 à 15 millimètres d'épaisseur.

Une coupe transversale faite au milieu de la tigelle présente (Pl. XII, fig. 47), sous un épiderme formé de petites cellules, recouvertes d'une cuticule bien développée, un parenchyme représenté par des cellules plus ou moins allongées radialement et se continuant sans interruption jusqu'au centre, sans qu'il soit possible de délimiter l'écorce du cylindre central. Il n'y a ni endoderme, ni péricycle différenciés.

Au sein de ce parenchyme, se trouvent des faisceaux conducteurs disposés isolément suivant un cercle. La grande majorité de ces faisceaux conducteurs sont représentés seulement par du liber (Pl. XII, fig. 48).

Un petit nombre de ces faisceaux conducteurs sont représentés par du bois et du liber et, dans ce cas, on trouve souvent le bois entouré par le liber.

On voit donc que cet embryon est différent de celui de *Symphonia* et d'*Allanblackia* où on a vu le liber formant un anneau continu séparant une région corticale d'une région médullaire. De plus, dans la tigelle de *Symphonia* et dans la tigelle d'*Allanblackia*, il y a un appareil sécréteur différencié; cet appareil est représenté par une multitude de canaux sécréteurs, tant dans l'écorce que dans la moelle, dans la tigelle de *Symphonia*, ou par un nombre très restreint de petits canaux sécréteurs corticaux dans la tigelle d'*Allanblackia*; au contraire, l'appareil sécréteur dans la tigelle de *Pentadesma* est diffus, la sécrétion s'opérant dans toutes les cellules du parenchyme cortical et médullaire sans qu'il y ait ni canaux ni poches différenciés.

Par la disposition et la structure des faisceaux conducteurs, l'embryon de *Pentadesma* se rapproche de l'embryon de *Xanthochymus*, décrit plus loin. D'ailleurs Vesque (1), dans sa monographie, se basant sur la structure de la feuille (épiderme, stomates, etc.), fait de ce genre le passage entre les *Moronobées* et les *Garciniées*.

(1) *Loc. cit.*, p. 248.

Digitized by Google

En ce qui concerne la germination je n'ai malheureusement pu avoir de plantules. Mais la seule considération de cet embryon, avec tigelle tuberculisée et bourrée de substances de réserves, permet d'affirmer que le mode de germination est pareil à celui d'*Allanblackia*.

Xanthochymus pictorius Roxb.

Embryon.

M. Van Tieghem (1), dans son second mémoire sur les canaux sécréteurs, étudie cet embryon au point de vue de l'appareil sécréteur. L'embryon de *Xanthochymus pictorius* mesure en général 40 millimètres de longueur sur 18 à 20 millimètres de largeur. Il est représenté par une radicule très peu développée, par une énorme tigelle tuberculisée, de forme ovoïde, allongée, légèrement comprimée dans le sens longitudinal et formant à elle seule presque tout l'embryon, car les deux petits cotylédons qu'elle porte sont extrêmement petits, imbriqués, protégeant ainsi le sommet de la gemmule. Le sommet de cette tigelle, au voisinage des cotylédons, présente un petit mamelon aplati situé dans un plan coupant les cotylédons par leur milieu.

Cette disposition est mise en évidence dans la microphotographie reproduite dans la Planche X, fig. 29 qui montre en outre l'ébauche de l'appareil conducteur non encore différencié dans les cotylédons d'un embryon n'ayant pas germé.

Des coupes transversales pratiquées au milieu d'un embryon non germé de *Xanthochymus pictorius* présentent une forme ovoïde ; à la périphérie, il y a un épiderme à cellules petites avec une cuticule assez développée. Un cercle de faisceaux conducteurs disposés isolément fait la séparation entre la moelle à l'intérieur et l'écorce à l'extérieur. Il n'y a pas de distinction entre le parenchyme médullaire et le parenchyme cortical, toutes les cellules sont pareilles, toutes sont bourrées d'amidon. Tout l'embryon contient une multitude de poches et surtout de canaux sécréteurs disposés dans toutes les directions et

(1) *Loc. cit.*, p. 41.

Digitized by Google

sécrétant un latex oléorésineux, jaune clair et opaque, qui est une sorte de gomme gutte.

Les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs sont tapissés de petites cellules sécrétrices à membrane cellulosique très mince. Le protoplasma de chaque cellule sécrétrice présente un aspect finement granuleux, avec un noyau assez grand. Il n'y a pas de grains d'amidon dans les cellules sécrétrices mais il y a beaucoup de substances oléorésineuses sous forme de toutes petites gouttelettes.

Il est intéressant de noter dans ces coupes transversales que dans le cercle de faisceaux conducteurs, il y a des faisceaux formés seulement par du liber, d'autres formés par du liber et du bois ayant la structure superposée, d'autres qui sont bicollatéraux ayant du liber développé du côté de la moelle, et d'autres enfin à structure concentrique.

Dans une microphotographie (fig. 30, Pl. X) on voit le commencement de cette structure concentrique avec l'assise génératrice qui fonctionne tout autour du bois.

Dans ce même embryon non germé, en faisant une coupe transversale à la base de la tigelle, on observe, dans le cylindre central, l'appareil conducteur disposé suivant un cercle fermé avec sept à huit groupes de tubes criblés représentant autant de faisceaux libériens, et, alternant avec eux, autant de faisceaux ligneux, ayant un, deux ou trois vaisseaux.

La région corticale possède de nombreux canaux sécréteurs, tandis que la région médullaire, peu développée, en est complétement dépourvue. Ici l'endoderme est nettement caractérisé par ses plissements.

Le péricycle est tantôt simple ou double en face des faisceaux ligneux et manque parfois en face des faisceaux libériens, de sorte qu'on voit des tubes criblés touchant l'endoderme.

Germination (1).

Dans de bonnes conditions, une graine de *Xanthochymus*

(1) Lubbock (*loc. cit.*, p. 233-234) décrit sommairement la germination de *Xanthochymus pictorius*, en nous donnant une figure représentant seulement la jeune tige avec les feuilles écailleuses et les deux premières feuilles sem-

Digitized by Google

pictorius germe au bout de dix à quinze jours. Les premiers signes de la germination se manifestent d'abord par la sortie de la radicule qui commence à s'allonger en se couchant vers le bas pour s'enfoncer dans la terre, puis au pôle opposé les petits cotylédons s'épanouissent, laissant sortir la gemmule. Aussitôt que la gemmule commence à pousser, on voit, à sa base, sortir une racine adventive destinée à prendre plus tard le rôle de racine principale.

Fig. 2. — Plantule de *Xanthochymus pictorius* montrant la radicule très grêle, la racine adventive très développée, et la jeune tige portant des premières feuilles écailleuses et une paire de feuilles normales.

La jeune tige pousse très vite et les premières feuilles qui prennent naissance sont écailleuses et très réduites.

Aussitôt que les deux premières feuilles semblables aux feuilles de l'arbre adulte ont apparu, la croissance et l'allongement de la jeune tige sont arrêtés, le sommet végétatif cessant pour quelque temps de fonctionner.

Pendant ce temps, la radicule continue à s'allonger, mais elle est vite dépassée en longueur et en épaisseur par la première racine adventive qui s'accroît et s'allonge rapidement.

La tigelle tuberculisée n'augmente pas de volume et ne s'allonge pas. Elle sert, par les substances de réserves accumulées, à nourrir la jeune plante pendant les premiers temps de

blables aux feuilles de l'arbre adulte. Goebel, dans son « Organographie der Pflanzen » (t. II, p. 462, 1900), décrit et figure l'embryon et la germination de *Xanthochymus pictorius*. D'autre part, Miers (*loc. cit.*, Pl. XXVI, fig. 34) figure, d'après Roxburgh, la germination d'un *Xanthochymus*.

Digitized by Google

son développement; une fois ces substances épuisées, elle tombe, se détachant de la plante et entraînant avec elle la première racine peu développée.

Radicule (Première racine). — Une coupe transversale menée au niveau où la coiffe est encore représentée par une ou deux assises de cellules montre, en dedans du reste de la coiffe, trois assises de cellules ne présentant pas de méats entre elles. Les cellules de ces trois assises contiennent des substances oléo-résineuses ; la plus externe est l'assise pilifère, dont les cellules sont les plus allongées radialement; l'assise sous-jacente est la plus sécrétrice. Cette assise a été bien décrite par M. Van Tieghem (1) sous le nom de *membrane oléifère*.

Tout le reste de l'écorce de cette jeune racine est formé de cellules arrondies dans l'écorce externe, allongées tangentiellement dans l'écorce interne.

Ces cellules de l'écorce sont disposées radialement et laissent entre elles des méats; il n'y a pas de canaux sécréteurs dans l'écorce, mais, par-ci par-là, ainsi que l'a déjà indiqué M. Van Tieghem, il y a des cellules sécrétrices isolées. Ces cellules sont remplies de produits de sécrétions.

L'écorce se termine par un endoderme encore dépourvu de plissements. Dans le cylindre central, on voit l'assise péricyclique qui est distincte de l'assise endodermique par l'alternance et par la taille plus grande de ses cellules ; par leur taille, les cellules péricycliques diffèrent aussi des autres assises du cylindre central.

On ne voit à ce niveau, dans ce cylindre central, que les premiers tubes criblés qui sont ici bien différenciés, c'est-à-dire dans leur phase de *différenciation maximum* ; c'est grâce à cette différenciation qu'on peut les reconnaître par la coloration à l'aide du brun Bismarck. Ces tubes criblés sont disposés par cinq groupes de deux ou de trois (fig. 31, Pl. X).

Ce n'est qu'à un niveau plus élevé de cette jeune racine qu'on voit apparaître les premiers vaisseaux, d'abord quatre faisceaux ligneux (Pl. X, fig. 32), le cinquième étant plus tardif. Pendant l'apparition du cinquième faisceau ligneux, on

(1) Ph. Van Tieghem, *Canaux sécréteurs des plantes*, premier mémoire (Ann. Sc. nat., 1872, p. 82).

Digitized by Google

voit dans les faisceaux libériens d'autres tubes criblés dans leur phase de différenciation maximum, les premiers tubes criblés ayant cessé de fonctionnner par suite de leur oblitération : en même temps, on voit, en dedans d'un faisceau libérien, (Pl. X, fig. 32), une cellule plus grande, à contenu granuleux avec un gros noyau et avec de très fines gouttelettes de substances oléorésineuses. Cette cellule commence à se diviser en deux, puis en quatre, et chacune de ces quatre cellules se divise encore en deux ; on a alors huit petites cellules. Les mêmes divisions ont lieu au-dessous et au-dessus de ce niveau ; il se différencie de la sorte des files de cellules qui s'écarteront pour former un canal sécréteur.

Il se forme ainsi un canal sécréteur en dedans de chaque faisceau libérien ; mais ces canaux ne se forment pas simultanément, les uns sont plus tardifs que les autres. Ces canaux n'ont donc pas une origine péricyclique comme ceux des Hypéricacées.

La membrane oléifère subit des modifications en se transformant en une assise subéreuse. En effet, les cellules qui la forment, commencent à présenter un aspect particulier ayant en général les faces interne et latérales subérifiées rappelant les cellules endodermiques d'une racine d'Iris (fig. 24, Pl. X).

A un niveau encore plus élevé, on voit qu'un faisceau libérien se divise en deux ; entre ces deux faisceaux libériens on voit apparaître un sixième faisceau ligneux.

Cette apparition graduelle des faisceaux ligneux est en rapport avec la taille de la racine.

De même que les faisceaux ligneux apparaissent graduellement dans la racine et pas tous à la fois, les canaux sécréteurs, eux aussi, apparaissent graduellement en dedans du liber. On trouve, en face de chaque faisceau libérien et en dedans, un canal sécréteur ; ce n'est qu'au moment où les formations secondaires commencent à se développer qu'on peut parfois trouver un nouveau canal sécréteur en face du liber primaire et à côté du canal déjà formé (fig. 36, Pl. X). Lors de la formation de ce nouveau canal sécréteur la région périmédullaire commence à se sclérifier.

Tigelle. — Pendant la germination et pendant toute la durée

Digitized by Google

de la vie de tigelle celle-ci ne s'accroît pas ; par ses réserves, elle sert au développement de la plante.

La tigelle est bien différente de la radicule tant par sa morphologie externe que par sa morphologie interne. Mais, pour indiquer d'une manière précise la limite entre la radicule et la tigelle, c'est à la morphologie interne qu'il faut s'adresser.

En dehors du caractère fondamental, c'est-à-dire de la présence d'un épiderme dans la tigelle, l'appareil sécréteur fournit une distinction très nette, de grande valeur, entre la radicule et la tigelle. En effet, l'écorce de la tigelle est caractérisée par la présence de nombreux canaux sécréteurs, lesquels manquent dans l'écorce de la radicule ; ces canaux sécréteurs s'arrêtent à la base de la tigelle en s'oblitérant complètement.

Les cellules sécrétrices de chaque canal sécréteur s'hypertrophient, commencent à se diviser, puis remplissent totalement le canal sécréteur en formant ainsi des thylles ; à la fin, le canal sécréteur prend tout à fait l'aspect du parenchyme cortical qui l'entoure (Pl. 11, fig. 37 et 38).

En outre, les canaux sécréteurs, qui sont présents dans les faisceaux libériens de la radicule, manquent totalement dans les faisceaux libériens de la tigelle.

Il n'existe aucune limite nette entre la tigelle et la radicule quand on s'adresse à l'appareil conducteur.

L'appareil conducteur qui a une structure superposée sur les neuf dixièmes de la longueur de la tigelle a une disposition alterne vers la base au voisinage de la radicule.

En étudiant à l'aide de coupes transversales pratiquées à différents niveaux, la tigelle d'une plantule dans laquelle la radicule a atteint 40 millimètres, la gemmule étant bien développée avec une jeune tige de 10 millimètres et la racine adventive, future racine principale, s'étant montrée, on observe des structures qui méritent d'être notées.

Sur une coupe transversale pratiquée à la base, au niveau où les canaux sécréteurs sont oblitérés, on voit, dans le cylindre central (fig. 40, Pl. XI), les sept faisceaux libériens bien développés et en superposition sur le liber, le bois secondaire très bien formé ; on voit aussi quelques vaisseaux d'origine pri-

Digitized by Google

maire, qui n'ont pas encore disparu, avec leur position primitive alterne encore très manifeste.

Cette partie inférieure de la tigelle présente un autre intérêt au point de vue des formations secondaires, je veux parler des formations subéro-phellodermiques.

H. Douliot (1), dans ses recherches sur le périderme, en parlant de l'adulte du *Xanthochymus pictorius*, nous dit qu'il n'a pu observer de périderme : « Dans le *Xanthochymus pictorius* où la cuticule atteint une épaisseur double ou triple de la cavité cellulaire, je n'ai pu observer de périderme ; la subérification, au lieu de porter sur les cloisons successives, a porté sur une même membrane considérablement épaissie. »

Je ne sais si le périderme ne se montre pas chez l'adulte, mais il se forme toujours à la base de la tigelle, aussitôt que la germination a commencé.

Comme on peut voir sur les figures 38 et 39 (Pl. XI), ce périderme est d'origine sous-épidermique ; j'ai même observé parfois des cellules épidermiques donnant naissance à du périderme.

Cette origine épidermique ou sous-épidermique du périderme est un caractère constant chez les tigelles de toutes les Guttifères ; chaque fois que les formations subéro-phellodermiques prennent naissance dans les tigelles, toujours elles ont une origine corticale très superficielle.

La tigelle de *Xanthochymus pictorius* présente à la base une moelle très peu développée, mais au fur et à mesure qu'on monte dans la tigelle, cette région médullaire s'agrandit et en même temps on observe un écartement des faisceaux conducteurs (Pl. XI, fig. 41).

Les faisceaux conducteurs se séparent les uns des autres mais gardent toujours leur disposition en ellipse.

La région médullaire s'agrandit de plus en plus, par l'éloignement des faisceaux. La moelle présente le plus grand développement au milieu de la tigelle et, à ce niveau, la plupart des faisceaux conducteurs présentent une structure bicollatérale et même concentrique, structure qui se montre déjà à ce niveau dans l'embryon non germé (Pl. X, fig. 30). En effet, comme

(1) H. Douliot, *Recherches sur le périderme* (Ann. des Sc. nat., 1889, p. 338).

Digitized by Google

le parenchyme médullaire aussi bien que le parenchyme cortical est bourré de substances de réserve, on s'explique très bien l'apparition du liber du côté de la moelle, les tubes criblés ainsi formés jouant un rôle très actif dans le transport de tous ces matériaux de réserve qui servent au développement de la plante.

A partir de ce niveau, sur des coupes transversales menées en se rapprochant des cotylédons, on observe la diminution de la moelle; les faisceaux conducteurs se serrant de plus en plus, ne présentent aucune trace de structure bicollatérale ou concentrique (Pl. XI, fig. 42).

On voit aussi des faisceaux conducteurs représentés seulement par du liber.

Plus haut encore, à la base des cotylédons, dans l'écorce les canaux sécréteurs réduisent leur diamètre de plus en plus; dans le cylindre central la disposition superposée est toujours bien établie. Sur la figure 45 de la planche XII, on voit aussi comment se détache un cotylédon avec sa nervure très peu développée.

Comme on a vu plus haut, les deux cotylédons de *Xanthochymus* sont très réduits, écailleux, et, quand l'embryon n'a pas germé, ils gardent leur position imbriquée protégeant le sommet végétatif de la gemmule. Pendant la germination, ces cotylédons s'épanouissent, et si à ce moment on fait une coupe transversale vers la base d'un cotylédon, on voit qu'il a une forme hémi-ellipsoïdale. Ce cotylédon présente un épiderme dépourvu de stomates et un parenchyme homogène formé de cellules plus ou moins arrondies. On y voit aussi huit à dix canaux sécréteurs. Au milieu de ce parenchyme homogène, il y a un îlot de petites cellules avec un appareil conducteur peu différencié (fig. 46, Pl. XII).

Racine adventive (future racine principale de l'arbre). — On a vu plus haut comment cette racine se développe et comment au point de vue de la morphologie externe, elle diffère de la radicule; en effet, cette première racine adventive a une très grande taille; elle est au moins quatre fois plus grande que la radicule.

Au point de vue de la structure interne et surtout du mode

Digitized by Google

de développement de l'appareil conducteur et sécréteur, elle présente aussi quelques particularités.

Près du sommet de cette racine adventive, une coupe transversale à un niveau où la coiffe est encore représentée par deux assises de cellules montre dans le cylindre central une multitude de tubes criblés groupés en sept faisceaux.

Ces tubes criblés (fig. 43, Pl. XI) ont la forme losangique caractéristique, très peu ont la forme pentagonale ; ils ont leur membrane épaissie, étant ici dans leur phase de *différenciation maximum*.

A un niveau un peu plus élevé et en faisant des coupes en série, on assiste à l'apparition simultanée des faisceaux ligneux au nombre de sept, nombre qui restera constant sur toute la longueur où la structure primaire sera représentée (Pl. XI, fig. 44).

Il est intéressant de constater que, contrairement à ce qu'on observe dans la radicule, le bois à très rapidement une disposition intermédiaire ; il y a à peine deux à quatre vaisseaux, les premiers formés ayant une direction franchement centripète.

Plus haut encore, les formations secondaires libéroligneuses commencent à se montrer ; on trouve, en dedans des faisceaux libériens, des canaux sécréteurs au nombre de deux, trois et même quatre par faisceau libérien. Par suite de formation de tubes criblés secondaires, ces canaux sécréteurs se trouvent englobés dans le faisceau libérien. En général le nombre des canaux sécréteurs dans un faisceau libérien est en rapport avec la grandeur de ce dernier.

Le périderme est d'origine superficielle ; il se forme dans la première ou la deuxième assise en dedans de l'assise subéreuse.

Xanthochymus dulcis Roxb.

Le *Xanthochymus dulcis* Roxb. (*Garcinia dulcis* Kurz), dont j'ai étudié la variété *pyriformis* Boerl., a un embryon pyriforme, un peu plus petit que celui du *Xanthochymus pictorius* et en diffère un peu par la forme.

Au contraire, au point de vue de la structure, ces deux espèces sont extrêmement voisines.

Digitized by Google

La tigelle comprend un épiderme formé de petites cellules avec une cuticule très développée, et un parenchyme homogène, bourré d'amidon, formé de cellules polyédriques, à membrane épaissie, et présentant de petites ponctuations. Dans ce parenchyme on observe une vingtaine de faisceaux conducteurs distincts, disposés suivant un cercle, tout à fait semblables à ceux du *Xanthochymus pictorius* ; les canaux sécréteurs sont très nombreux et ont une très large lumière.

Sous-genre **EUGARCINIA**.

Comme *Garcinia* de la section *Mangostana*, j'ai eu des embryons et des germinations de *Garcinia tonkinensis* Vesque, *Garcinia porrecta* Wall., *Garcinia Benthami* Pierre, *Garcinia cornea* L. et *Garcinia celebica* L.

Pour la section *Rhinostigma*, j'ai eu à ma disposition une grande quantité de graines de *Garcinia sizygiifolia* Pierre.

Garcinia tonkinensis Vesque.

Le *Garcinia tonkinensis* Vesque (*Garcinia Balansæ* H. Bn) a un embryon ovoïde, allongé, mesurant environ 30 millimètres de longueur et 13 millimètres d'épaisseur. La radicule est extrêmement réduite, la tigelle, tuberculisée, forme presque tout l'embryon, les cotylédons sont réduits à de petites écailles imbriquées.

Dans la tigelle, l'épiderme est constitué par de petites cellules recouvertes d'une cuticule assez épaisse ; l'écorce est très développée, formée de cellules polyédriques à membranes un peu épaissies et pourvues de ponctuations. Ces cellules contiennent beaucoup de substances oléagineuses. Cette écorce contient en outre de nombreux canaux sécréteurs à très large lumière, bordés par des cellules sécrétrices à membranes très minces. L'endoderme, peu reconnaissable, ne présente pas de plissements. Le cylindre central comprend une quarantaine de faisceaux libériens disposés suivant un cercle et comptant chacun de un à cinq tubes criblés et autant de faisceaux ligneux superposés aux précédents et formés chacun par un

Digitized by Google

ou deux vaisseaux. Certains de ces faisceaux libéroligneux présentant seulement un seul vaisseau du bois ont déjà une assise génératrice extrêmement nette. Le parenchyme médullaire est tout à fait semblable au parenchyme cortical ; on y observe les mêmes cellules oléifères et les mêmes canaux sécréteurs.

En résumé, par la présence de nombreux canaux sécréteurs dans l'écorce et dans la moelle, cet embryon se rapproche de celui de *Xanthochymus*, tandis que par son appareil conducteur et ses réserves oléagineuses abondantes il se rapproche de celui des autres *Eugarcinia*. Les graines que j'ai reçues étaient dans l'alcool ; je n'ai donc pu en avoir de germination.

Garcinia porrecta Wall.

Embryon.

L'embryon de *Garcinia porrecta* est ovoïde, représenté par une tigelle très grosse, formant à elle seule presque tout l'embryon ; la radicule est extrêmement petite et les deux cotylédons sont réduits à deux petites écailles, imbriquées, protégeant le sommet de la gemmule comme dans l'embryon de *Xanthochymus*.

En général, l'embryon de *Garcinia porrecta* mesure 20 millimètres de longeur sur 10 à 12 millimètres de largeur.

Examinons une coupe transversale pratiquée au milieu de la tigelle d'embryon n'ayant pas encore germé, on observe la structure suivante :

Tout d'abord, l'épiderme est formé de petites cellules avec une cuticule assez épaisse. En dedans de cet épiderme, l'écorce montre d'abord quatre ou cinq assises de cellules polyédriques, allongées dans le sens radial, puis un parenchyme formé de cellules à peu près isodiamétriques, épaissies et présentant, au voisinage des cellules externes allongées, un ou deux cercles de canaux sécréteurs (Pl. XII, fig. 49). Ces canaux sécréteurs ont une lumière étroite et présentent, sur la coupe, sept à huit cellules sécrétrices ; ces cellules sécrétrices ont une membrane très mince, un contenu protoplasmique finement granuleux, dépourvu toujours d'amidon et présentant de nombreuses et très fines gouttelettes de substances oléagineuses. Le noyau de chacune des cellules sécrétrices est assez gros.

Digitized by Google

Le cylindre central comprend un cercle de 20 à 28 faisceaux conducteurs, représentés soit par des faisceaux libériens seulement, soit par des faisceaux libéroligneux à bois superposé, soit même par des faisceaux où la structure bicollatérale ou concentrique commence à se montrer : dans ce cas, il se forme tout autour du bois une assise génératrice continue donnant du liber et quelques rares vaisseaux de bois. En dehors, et seulement en face de chaque faisceau conducteur, on voit très nettement une assise de cellules à contenu amylacé, ayant leurs parois latérales pourvues des épaississements caractéristiques de l'endoderme (Pl. XII, fig. 50).

Cette assise endodermique sert de protection au liber qui se trouve immédiatement en-dessous, l'assise péricyclique faisant totalement défaut.

Une coupe transversale menée vers la base de la tigelle nous montre la même disposition des canaux sécréteurs, mais les faisceaux conducteurs sont plus serrés et les cellules à parois latérales plissées forment tout autour une assise continue.

La région corticale de l'embryon est abondamment pourvue d'oxalate de calcium qui se présente dans la profondeur de l'écorce, près du cercle de faisceaux conducteurs sous la forme de petites mâcles, et vers la périphérie, au voisinage de canaux sécréteurs sous la forme de gros sphérocristaux.

Germination.

Le mode de germination est semblable à celui du *Xanthochymus pictorius* et comme dans cette espèce, la tigelle joue un rôle nutritif dans le développement de la plante.

Cette tigelle ne s'accroît pas, elle conserve la même forme et les mêmes dimensions jusqu'à sa mort, c'est-à-dire jusqu'à l'épuisement de ses réserves.

A un âge où la plantule présente sa tigelle avec une radicule assez allongée, une racine adventive (future racine principale de l'arbre) très développée et une jeune tige avec ses deux premières feuilles ; une coupe transversale pratiquée au milieu de cette tigelle montre, comme dans le *Xanthochymus*, un grand développement du liber et une tendance, dans un assez grand

Digitized by Google

nombre de faisceaux conducteurs, à la structure concentrique. De plus, on observe un périderme bien développé d'origine épidermique ou superficielle.

La radicule ne possède pas de canaux sécréteurs dans l'écorce. Dans le cylindre central, l'appareil conducteur est représenté par 4 ou 5 faisceaux libériens et, alternant avec eux, par 4 ou 5 faisceaux ligneux. Le nombre de faisceaux libériens et ligneux est un peu en rapport avec la grosseur de la racine : une racine grêle aura 4 faisceaux, tandis qu'une autre ayant un diamètre plus grand en aura 5.

Les faisceaux libériens de cette radicule sont totalement dépourvus de canaux sécréteurs.

La racine adventive ne présente rien de particulier, sauf le nombre plus grand de faisceaux libériens et ligneux.

Garcinia cornea L.

L'embryon et la plantule présentent au point de vue de la morphologie externe et interne les mêmes caractères que *Garcinia porrecta* Wall.

Dans une germination, j'ai observé seulement une radicule un peu aplatie, et, ayant fait une coupe transversale, j'ai constaté la présence de 3 cylindres centraux, dont un très petit et deux plus grands et d'égale dimension (Pl. XI, fig. 51).

Garcinia Benthami Pierre.

L'embryon de *Garcinia Benthami* est aplati, représenté, comme chez toutes les Garciniées par une tigelle tuberculisée, une radicule très réduite et des cotylédons écailleux et minuscules. L'embryon mesure en général 20 à 25 millimètres de longueur, 10 à 15 millimètres de largeur et 7 à 9 millimètres d'épaisseur.

L'embryon est bourré de substances oléagineuses, solides, tout à fait comme celui du *Garcinia porrecta* et, comme dans celui-ci, la région corticale possède des canaux sécréteurs disposés sous la deuxième ou troisième assise sous-épidermique. Ces canaux sécréteurs, de la même taille que les canaux sécré-

Digitized by Google

teurs de la tigelle de *Garcinia porrecta*, sont disposés sur un seul cercle.

Sur une coupe transversale faite au milieu de la tigelle, on voit une vingtaine de faisceaux conducteurs disposés isolément ; mais, à la base de la tigelle, leur nombre est plus réduit. Ces faisceaux sont très serrés et l'assise endodermique qu'on ne pouvait pas distinguer au milieu de la tigelle, s'observe ici très bien avec les plissements caractéristiques. On trouve, comme dans la tigelle de *Xanthochymus*, une structure alterne à la base de cette tigelle.

Le mode de germination est pareil à celui de *Xanthochymus*.

L'écorce de la radicule ainsi que celle de la racine adventive (qui formera plus tard la racine principale de l'arbre) sont dépourvues de canaux sécréteurs. Mais s'il n'y a pas de canaux sécréteurs dans l'écorce, il y a des cellules sécrétrices. Celles-ci sont représentées par les cellules de l'assise subéreuse ; toutes ces cellules contiennent des substances de couleur jaune et de nature oléo-résineuse. Cette assise subéreuse sécrétrice est la *membrane oléifère*, décrite pour la première fois par M. Van Tieghem (1).

L'écorce est limitée par une assise endodermique avec des plissements caractéristiques.

Le péricycle est simple et continu ; on peut pourtant voir quelquefois des tubes criblés directement appliqués sur l'endoderme.

Dans la radicule, le nombre de faisceaux libériens est en général de six à sept et, alternant avec eux, autant de faisceaux ligneux. Dans la racine adventive, il y a un nombre double de faisceaux. Ni dans la radicule, ni dans la racine adventive, je n'ai pu constater la présence de canaux sécréteurs dans le liber.

Dans la radicule et dans la racine adventive la région médullaire se sclérifie à la périphérie.

Garcinia celebica L.

Cette espèce ressemble au *Garcinia Benthami* Pierre, au point de vue de la morphologie interne et externe de l'embryon et de la plantule.

(1) *Loc. cit.*

Digitized by Google

Garcinia sizygiifolia Pierre.

EMBRYON.

L'embryon est représenté par une tigelle très aplatie, par une radicule extrêmement petite et par des cotylédons réduits à de petites écailles, imbriquées, protégeant le sommet de la gemmule.

Cet embryon mesure d'habitude 15 à 18 millimètres de longueur, 10 millimètres de largeur et 2 à 3 millimètres d'épaisseur.

Une coupe transversale pratiquée au milieu de l'embryon non germé nous montre une écorce très développée et un cylindre central très réduit (Pl. XII, fig. 52 et 53).

L'écorce est limitée à l'extérieur par un épiderme formé de petites cellules présentant une cuticule très mince. La région corticale est formée par des cellules polyédriques à membrane épaissie.

Toutes les cellules corticales sont bourrées de substances oléagineuses solidifiées et cristallisées, formant des paquets de longues et fines aiguilles (Fig. 54, Pl. XIII). L'acide osmique, l'orcanette ou le Soudan III nous indiquent la nature graisseuse de ces cristallisations qui se dissolvent dans la benzine et l'éther sans laisser aucun résidu.

Dans les cellules corticales on trouve aussi des grains d'amidon en assez grande quantité; ceux-ci sont particulièrement abondants, dans les cellules endodermiques.

Le cylindre central est très réduit par rapport à l'écorce; il est limité par une assise péricyclique.

L'appareil conducteur est représenté par trois faisceaux libériens et par trois faisceaux ligneux, le bois étant superposé au liber.

Il est intéressant de noter dans les faisceaux libériens la courte période de fonctionnement des tubes criblés; ceux-ci, en effet, par l'épaississement inégal de leur paroi à l'intérieur du tube, réduisent de plus en plus leur cavité, qui prend tout d'abord un aspect étoilé et finit par être complètement oblitérée. A ce moment, d'autres tubes criblés se forment qui remplaceront les premiers (Pl. XIII, fig. 53).

Digitized by Google

La région médullaire est représentée par quelques cellules, bourrée aussi de substances grasses.

L'appareil sécréteur n'est différencié ni dans l'écorce ni dans le cylindre central; pourtant, il y a une sécrétion très active qui s'opère de la même façon que dans l'embryon de *Pentadesma butyracea*. Dans chaque cellule, soit de l'écorce, soit de la moelle, on constate, en outre du corps gras cristallisé, une mince couche de nature oléo-résineuse, appliquée contre la membrane, représentant ainsi le produit de sécrétion de la cellule.

M. E. Heckel (1) a constaté aussi l'absence de canaux sécréteurs dans les embryons de *Garcinia indica* Choisy, *Garcinia cochinchinensis* Choisy et *Garcinia pictoria* Roxb. Il a trouvé dans ces embryons des cellules sécrétrices et pense que pendant la période germinative les canaux sécréteurs ne se forment pas dans les plantules.

On verra comment l'embryon de *Garcinia sizygiifolia*, qui est dépourvu de canaux sécréteurs tant qu'il n'a pas germé, commence à en posséder vers la partie supérieure de sa tigelle aussitôt que la gemmule est sortie et que la radicule a commencé à se développer.

Germination.

Le mode de germination est semblable à celui de *Xanthochymus*. On voit d'abord la radicule qui pousse très vite, donnant naissance aussitôt à des radicelles. La tigelle ne s'accroît pas, mais la gemmule s'allonge rapidement et les premières feuilles sont réduites à des écailles comme chez *Xanthochymus*.

Une racine adventive naîtra sur la jeune tige à sa base et c'est cette racine adventive qui prendra plus tard le rôle de racine principale.

La tigelle, une fois ses réserves épuisées, finira par se détacher de la plante, entraînant ainsi avec elle la première racine.

Je vais décrire la structure de la radicule, puis la structure de la racine adventive qui prendra plus tard le rôle de racine principale.

(1) *C. R. Acad. des Sc.*, t. CXXIX, 1899, p. 508.

Digitized by Google

Radicule. — Une coupe transversale (Pl. XII, fig. 55), menée dans la radicule à 6 millimètres du sommet, nous montre une écorce bien développée avec une assise pilifère dépourvue de poils absorbants, une assise subéreuse dont les membranes cellulaires sont déjà subérifiées, puis cinq assises de cellules arrondies, laissant entre elles des méats assez grands et enfin une dernière assise, l'assise endodermique avec ses plissements caractéristiques.

Le cylindre central est limité par un péricycle simple, et possède trois groupes de tubes criblés formant trois faisceaux libériens et, alternant avec eux, trois faisceaux ligneux. La moelle n'a rien de particulier, elle est formée de cellules polyédriques.

Il n'y a de canaux sécréteurs ni dans l'écorce ni dans le cylindre central.

Racine adventive. — Cette première racine qui prendra le rôle de racine principale, est différente de la radicule non seulement par sa taille plus grande, mais aussi par sa structure interne.

En effet, dans le cylindre central, on voit six faisceaux libériens alternant avec six faisceaux ligneux.

L'écorce est semblable à celle de la radicule, sauf qu'elle est plus développée étant donnée la taille plus grande de cette première racine adventive.

Tigelle. — A un stade de développement assez avancé, lorsque la jeune plante a sa première racine adventive bien développée, lorsque la tige a donné naissance aux deux premières feuilles semblables comme forme aux feuilles de l'arbre adulte, une coupe transversale menée au milieu de la tigelle nous fait assister à la formation d'un périderme d'origine épidermique et au début de la disparition des matières de réserve, amidon et substances grasses.

A ce stade, dans le cylindre central, les formations secondaires libéro-ligneuses sont à leur maximum de développement et la moelle est entièrement sclérifiée.

Cette tigelle, vers sa partie supérieure, commence à présenter, dans son écorce, un cercle de canaux sécréteurs, schizogènes et situés d'habitude sous la deuxième assise sous-épidermique

Digitized by Google

(Pl. XIII, fig. 56). Dans cette région supérieure la moelle n'est pas sclérifiée, mais le cercle continu de bois est bien représenté.

TROISIÈME TYPE

Ce troisième type d'embryon de Guttifères caractérise la tribu des Calophyllées.

J'ai vainement cherché à me procurer des graines de *Kielmeyera*, *Caraipa*, *Haploclathra*, *Marila* et *Mahurea* dont l'étude aurait été intéressante, car ces genres, considérés autrefois comme des Ternstrœmiacées, ont été rattachés aux Clusiacées (tribu des Calophyllées) par M. Van Tieghem d'abord, et plus tard par M. Engler qui en fait une tribu distincte, la tribu des *Kielmeyeroïdées*.

J'ai pu étudier les genres *Calophyllum* L., *Mesua* L., *Mammea* L. et *Ochrocarpus* Dupetit-Thouars. Ce dernier genre doit en effet rentrer dans la tribu des Calophyllées ainsi que l'ont admis M. Van Tieghem et M. Engler et non dans celle des Garciniées où Vesque l'avait placé.

Ce troisième type est caractérisé par la réduction de la tigelle et le grand développement des cotylédons, dans lesquels s'accumulent les matières de réserve, alors que dans le dernier et le second type ces matières de réserve se trouvaient dans la tigelle, les cotylédons restant très réduits.

Dans ce troisième type d'embryon, comme dans le premier type, la racine principale de l'arbre provient du développement de la radicule et non de celui de la première racine adventive comme dans le deuxième type.

Calophyllum Calaba Jacq.

Embryon.

L'embryon est sphérique et mesure en général 13 à 18 millimètres de diamètre. La tigelle est très réduite et porte deux énormes cotylédons tuberculeux, hémisphériques. Les cotylédons sont accolés sur toute leur longueur, sauf vers leur base où ils ménagent un petit espace libre vers le sommet de la gemmule.

Tout l'embryon est percé d'une multitude de canaux sécré-

Digitized by Google

teurs, souvent ramifiés et contenant un produit de sécrétion jaune clair, semi-fluide et opaque. Le parenchyme est rempli dans toute son étendue de substances oléagineuses et de nombreux grains d'amidon très petits, uniformément répartis dans toutes les cellules ; les grains d'amidon sont surtout très abondants dans la moitié inférieure de chaque cotylédon. L'embryon est donc à la fois oléagineux et amylacé. M. Van Tieghem (1), qui a étudié cet embryon au point de vue de l'appareil sécréteur, le considère comme simplement oléagineux par opposition à celui de *Mammea* qui est amylacé.

Une coupe axiale longitudinale nous montre l'embryon entouré complètement par un épiderme. Cet épiderme ne subit aucune division tangentielle vers le sommet de la radicule ; la radicule est d'origine profonde et se trouve séparée de l'épiderme général par une couche de cellules parenchymateuses semblables aux cellules de la base des cotylédons. On verra plus loin, dans la radicule de *Mammea americana*, la même disposition.

Les canaux sécréteurs sont très développés ; on les observe tout près des initiales de l'écorce, comme on l'a déjà vu dans la radicule de *Clusia* ; on peut les suivre à travers la tigelle et jusque dans les cotylédons où ils peuvent se ramifier dans toutes les directions.

Les cellules sécrétrices des canaux sécréteurs ont une membrane mince ; elles ne contiennent jamais de grains d'amidon, mais, en revanche, beaucoup de fines gouttelettes oléagineuses se trouvent dans leur protoplasma finement granuleux.

L'appareil conducteur est très bien développé dans les cotylédons et beaucoup moins dans la très courte tigelle et à peine ébauché dans la radicule.

Dans chaque cotylédon, les nervures sont irrégulièrement disposées dans le parenchyme et les faisceaux qui constituent ces nervures ont presque tous une structure concentrique (fig. 62. Pl XIV).

Germination.

Les nombreuses graines de *Calophyllum Calaba* que j'ai eues à ma disposition proviennent de la Guadeloupe,

(1) *Loc. cit.*, second mémoire, p. 41.

Digitized by Google

La durée de leur germination a été de trois semaines.

Les premiers signes de la germination d'une graine de *Calophyllum* se manifestent par une fente qui se fait dans le tégument, dans la région du micropyle. La radicule sort par cette fente et, en se courbant vers le bas, elle s'allonge assez vite.

En même temps, à la base de chaque cotylédon hypogé, les cellules se divisent rapidement, formant ainsi les pétioles cotylédonaires.

Ces pétioles cotylédonaires sortent du tégument de la graine en élargissant la fente de germination, et s'écartent un peu, laissant un espace par où passera la gemmule.

La jeune tige commence à pousser quand la radicule est déjà bien développée (10 centimètres de long environ) et a donné naissance à de nombreuses radicelles.

Fig. 3. — Plantule de *Calophyllum Calaba*. — Le tégument de la graine a été enlevé pour faire voir les deux cotylédons. On distingue les pétioles cotylédonaires, la tigelle très courte et la gemmule sortant à la base des deux pétioles cotylédonaires.

Pendant ce temps, les cotylédons continuent à rester enfermés dans le tégument de la graine, sauf les pétioles cotylédonaires qui sortent et qui, n'étant plus protégés, développent un périderme d'origine sous-épidermiques (Pl. 14, fig. 60) dans lequel on observe de nombreuses lenticelles.

Les deux cotylédons, une fois leurs réserves nutritives épuisées, finiront par tomber.

Radicule. — Dans son « Premier mémoire sur les canaux sécréteurs des plantes » M. Van Tieghem étudie le premier la racine de *Calophyllum Calaba* au point de vue de la disposition des canaux sécréteurs. Dans son Traité de Botanique (deuxième édition) le même auteur nous décrit l'assise subéreuse (1) de cette racine en donnant une figure ; il y donne aussi des ren-

(1) Ph. Van Tieghem, *Canaux sécréteurs des plantes*, premier mémoire (Ann. Sc. nat., 5e série, t. XVI, 1872).

Digitized by Google

seignements avec figure sur le début du périderme (1) d'origine toujours péricyclique.

Prenons une plantule qui a une jeune tige developpée de 20 millimètres et une radicule (racine principale) de 10 centimètres et faisons dans cette racine des coupes en série en partant du sommet végétatif pour arriver à la tigelle.

Une coupe transversale menée tout près du sommet végétatif nous montre une écorce bien formée et un cylindre central différencié et limité par une assise péricyclique très nette.

La coiffe est encore représentée par trois assises de cellules. L'écorce présente deux régions, une externe et une interne; l'écorce externe est constituée par des cellules de forme polygonale, laissant de petits méats entre elles; l'écorce interne est constituée par des cellules aplaties dans le sens tangentiel et disposées en séries radiales, très règulières, laissant entre elles des méats assez grands; elle est limitée par un endoderme n'ayant pas encore de plissements.

Tant dans l'écorce externe que dans l'écorce interne, on voit des canaux sécréteurs, très jeunes, ayant une toute petite cavité.

Le cylindre central est limité par un péricycle simple, reconnaissable par l'alternance de ses cellules avec celles de l'assise endodermique. Dans ce cylindre central, au contact de l'assise péricyclique, on observe les cellules mères de premiers tubes criblés; c'est la seule différenciation qu'on puisse observer à ce niveau.

Un peu plus haut, on voit dans l'écorce les canaux sécréteurs agrandissant leurs cavités et, dans le cylindre central, on observe les premiers tubes criblés formés et disposés par groupes, constituant autant de faisceaux libériens. Le nombre des faisceaux libériens est variable, il oscille entre huit et dix.

Dans chaque faisceau il y a trois ou quatre tubes criblés de forme losangique caractéristique, très peu de forme pentagonale. La différence de forme des tubes criblés tient à leur mode de développement comme M. G. Chauveaud (2) l'a montré dans ses recherches sur le mode de formation des tubes criblés.

(1) Ph. Van Tieghem, *Traité de Botanique*, 2e édition, p. 678, 719.
(2) *Loc. cit.*.

Digitized by Google

Si on continue la série des coupes, on assiste à un niveau plus élevé à l'apparition de nouveaux tubes criblés; plus haut, on observe le début de la formation des faisceaux ligneux se différenciant entre les faisceaux libériens déjà très développés. Plus haut encore, les formations secondaires libéroligneuses commencent à se montrer. L'assise subéreuse présente sur les parois latérales de ses cellules des plissements analogues aux plissements des cellules de l'endoderme. Les canaux sécréteurs ont une lumière de plus en plus large et se divisent souvent en deux, trois, plus rarement quatre (Pl. XIX, fig. 58).

En se rapprochant de la base de la racine on observe, quand les formations secondaires libéroligneuses sont bien developpées, le début de la formation du périderme caractérisé par la division tangentielle des cellules péricycliques situées en face du liber primaire; à ce stade, le périderme est donc fractionné (Pl. XIX, fig. 61). C'est à un niveau encore plus élevé que le périderme est continu, toutes les cellules péricycliques sont alors en division tangentielle; et en même temps, les cellules endodermiques se divisent radialement.

Lorsque les formations subéro-phellodermiques commencent à se développer, on voit apparaître des canaux sécréteurs dans le liber secondaire.

Enfin, une dernière coupe pratiquée près de la jeune tige montre dans la moelle quelques canaux sécréteurs de petite taille.

C'est en faisant une série de coupes dans la région où commencent à se différencier les vaisseaux du bois que j'ai observé dans une radicule de *Calophyllum Calaba* une anomalie intéressante.

Dans cette racine, la moelle présentait, sur une longueur d'environ 10 millimètres, un petit cordon différencié.

Des coupes successives partant de la région apicale, font voir que ce petit cordon se manifeste tout d'abord par un îlot de cellules de parenchyme, beaucoup plus petites que les cellules de la moelle et de contour polygonal. Dans cet îlot parenchymateux se différencient en premier lieu (Pl. XV, fig. 69) trois ou quatre groupes de tubes criblés disposés suivant un arc à concavité tournée du côté du centre de la racine; puis, en dehors de ces tubes criblés, se différencient trois groupes de

Digitized by Google

vaisseaux à parois lignifiées, non superposés aux précédents et disposés aussi suivant un arc de cercle concentrique à l'arc de tubes criblés. Les tubes criblés qui ont apparu plus près du sommet que les vaisseaux disparaissent les premiers.

La même racine, dans des coupes transversales pratiquées dans une région plus élevée où la structure primaire était bien établie et où les formations secondaires libéroligneuses commençaient à se montrer, m'a fait voir une autre particularité : dans la moelle, se différencient un petit nombre de canaux sécréteurs, d'abord deux puis un troisième, puis plus haut un quatrième (Pl. XIV, fig. 59) ; de plus, les faisceaux libériens et ligneux sont beaucoup plus nombreux que dans une racine normale et le bois y affecte immédiatement une disposition tangentielle.

En résumé, dans la racine principale d'une plantule de *Calophyllum Calaba*, les canaux sécréteurs se différencient dans l'écorce de très bonne heure, tout près des initiales ; beaucoup plus tard, on en voit apparaître dans le liber secondaire et enfin plus tard encore dans la moelle où ils sont de petite dimension ; on verra plus loin que la racine de *Mammea americana* présente exactement la même disposition.

Nœud cotylédonaire. — Dès que la coupe transversale atteint le nœud cotylédonaire les canaux sécréteurs sont nettement différenciés dans la moelle, à condition toutefois de s'adresser à une plantule suffisamment âgée, car j'ai constaté, sur un échantillon plus jeune que la plantule normale dont je viens de décrire la racine, l'absence de ces canaux sécréteurs médullaires ; cette coupe transversale montre l'ébauche des deux pétioles cotylédonaires, avec les faisceaux conducteurs groupés suivant un arc correspondant à chacun de ces pétioles.

La structure de ces faisceaux conducteurs est secondaire et, sur la coupe, on voit partout les traces d'une multitude d'éléments libériens et d'éléments vasculaires qui ont disparu.

Entre les deux groupes de faisceaux conducteurs appartenant aux deux cotylédons, on voit quelques vaisseaux et quelques tubes criblés, formant les faisceaux libéroligneux caulinaires.

Il y a de nombreux canaux sécréteurs corticaux ; vers l'extérieur, on rencontre une couche de liège très développée et,

Digitized by Google

sur beaucoup de points, des lenticelles assez grandes et bien constituées.

Les canaux sécréteurs médullaires existent seulement dans la jeune tige alors qu'ils ne sont pas encore développés dans la tigelle. En effet, si on fait une coupe transversale à la base d'une tige d'à peine un demi-centimètre, donc à un niveau immédiatement supérieur au nœud cotylédonaire, on constate la présence de canaux sécréteurs médullaires d'origine toujours schizogène.

Cotylédons. — Les cotylédons ont la même structure que ceux de l'embryon non germé, toutefois les substances de réserve ont beaucoup diminué. Les pétioles cotylédonaires sont recouvertes, comme la tigelle, d'un périderme d'origine superficielle et présentant de nombreuses lenticelles (fig. 63, Pl. XIV).

Mesua ferrea L.

Embryon.

L'embryon de *Mesua ferrea* a la forme d'une amande; il est convexe d'un côté, et mesure en général 18 à 22 millimètres de longueur, 6 à 10 millimètres de largeur et 7 à 12 millimètres d'épaisseur.

La radicule est très petite et la tigelle, extrêmement réduite, porte deux grands cotylédons charnus, qui forment à eux deux presque tout l'embryon.

La structure de la radicule ne présente rien de particulier.

Les canaux sécréteurs prennent naissance dans l'écorce tout près des initiales, comme dans le genre *Calophyllum*; ils se continuent à travers la courte tigelle et se prolongent dans les cotylédons où ils peuvent se ramifier.

Les nombreuses poches sécrétrices, ovoïdes, plus ou moins allongées, qu'on trouve dans les cotylédons, sont pour ainsi dire des canaux sécréteurs fragmentés et émiettés.

Un cotylédon non germé montre, sous un épiderme formé de petites cellules recouvertes d'une cuticule assez mince, un parenchyme homogène constitué par des cellules isodiamétriques, remplies de substances oléagineuses et de nombreux petits grains d'amidon. Ce parenchyme est percé de nombreux canaux

Digitized by Google

sécréteurs et de nombreuses poches sécrétrices plus ou moins allongées. La plupart des faisceaux qui forment les nervures ont une structure concentrique tout à fait semblable à celle des faisceaux cotylédonaires du *Calophyllum Calaba*.

Dans le parenchyme cotylédonaire, on trouve de nombreux cristaux et mâcles d'oxalate de calcium, disposés surtout vers la périphérie.

Germination (1).

Quand la graine germe, on voit d'abord le tégument se déchirer par des fentes rayonnantes autour du micropyle, permettant ainsi la sortie de la radicule; en même temps, les pétioles cotylédonaires s'allongent, en s'écartant par leur base, et laissent ainsi libre passage à la gemmule.

Les cotylédons restent enfermés dans le tégument de la graine et serviront par leurs réserves à nourrir la plantule; une fois leur rôle terminé, ils tombent entraînant aussi le tégument.

Radicule. — Une coupe transversale menée tout à fait au sommet, au niveau où la coiffe est encore représentée par deux ou trois assises de cellules, montre une écorce déjà bien développée, formée de cellules isodiamétriques et présentant des méats entre elles; cette écorce contient des canaux sécréteurs différenciés et disposés suivant deux cercles; chaque canal sécréteur se montre formé de huit à douze sécrétrices; l'endoderme ne présente pas de plissements.

Le cylindre central est limité par un péricycle qui est simple, mais parfois dédoublé en face d'un groupe de tubes criblés. Ce péricycle se distingue très bien de l'endoderme, par la taille et par l'alternance de ses cellules.

Dans ce cylindre central on trouve, immédiatement sous le péricycle, quatre groupes de 7 à 10 tubes criblés. Ces tubes criblés ont la forme losangique caractéristique, quelques-uns ont la forme pentagonale.

(1) Les graines de *Mesua ferrea* que j'ai eues provenaient du Jardin Botanique de Buitenzorg. Toutes les graines, sauf trois, avaient germé en route et se trouvaient à divers stades de germination. — Voy. aussi John Lubbock (*loc. cit.*, p. 235-236), qui décrit cette germination.

Digitized by Google

Le bois n'est pas encore différencié et la région médullaire est formée par des cellules polyédriques ne laissant pas de méats entre elles ; les canaux sécréteurs manquent. Une série de coupes pratiquées à des niveaux de plus en plus éloignés du sommet de la racine montre d'abord quatre faisceaux ligneux, se différenciant simultanément ; plus haut un cinquième apparaît après la division d'un des faisceaux libériens ; plus haut encore à la suite de la division d'un ou deux autres faisceaux libériens, il apparaît un ou deux nouveaux faisceaux ligneux. On a ainsi dans cette racine avant l'apparition des formations secondaires sept faisceaux libériens et sept faisceaux ligneux. Ce mode de développement de faisceaux conducteurs est tout à fait pareil à celui décrit pour la radicule de *Xanthochymus pictorius*.

Après l'apparition du septième faisceau ligneux, et dans une région encore plus élevée, on observe le début des formations secondaires : le bois devient superposé au liber et, en dedans du liber, se forment des canaux sécréteurs. Une série longitudinale de cellules provenant de l'assise génératrice, au lieu de donner naissance à du liber secondaire, s'agrandit et par des divisions successives donne naissance à un canal sécréteur. Dans une racine âgée, le périderme se montre d'origine péricyclique tout à fait comme dans une racine de *Calophyllum Calaba*.

En résumé, la radicule du *Mesua ferrea* présente beaucoup de ressemblance avec le radicule *Calophyllum Calaba*.

Tigelle. — La tigelle présente un périderme d'origine superficielle ; l'appareil conducteur a une disposition superposée, la moelle possède un canal sécréteur plus ou moins axial.

Cotylédons âgés. — Les cotylédons âgés du *Mesua ferrea* présentent la même structure qu'avant la germination. Les substances de réserve ont seulement diminué et le liber a pris un développement beaucoup plus considérable.

Mammea americana L.

Embryon.

Le *Mammea americana*, unique espèce du genre, possède un embryon de très grande taille, de forme ovoïde, souvent légèrement convexe d'un côté et concave de l'autre, mesurant en

Digitized by Google

général jusqu'à 7 centimètres de longueur, 4 à 5 centimètres de largeur et 3 à 4 centimètres d'épaisseur.

La radicule est très petite, proéminente sous forme d'un petit mamelon. La tigelle, extrêmement courte, porte deux énormes cotylédons très épais et adhérents, généralement de taille un peu inégale. Cet embryon est très voisin comme structure de celui de *Calophyllum Calaba*.

Une coupe axiale longitudinale montre qu'il est entouré d'un épiderme continu formé de petites cellules recouvertes d'une cuticule assez développée.

Cet épiderme en face de la radicule n'est pas divisé tangentiellement et, entre la coiffe et l'épiderme, il y a une couche de cellules parenchymateuses semblables aux cellules de la base des cotylédons (Pl. XV, fig. 65) ; la radicule a donc ici une origine profonde ; il serait intéressant à ce sujet d'étudier le développement de l'embryon. Peut-être ce tissu parenchymateux tire-t-il son origine du suspenseur. Le parenchyme cotylédonaire est formé de cellules polyédriques plus ou moins arrondies. La membrane de ces cellules présente des épaississements inégaux. Le parenchyme est complètement bourré de grains d'amidon de grande taille.

L'appareil sécréteur présente la même disposition que dans l'embryon de *Calophyllum* ou que dans celui de *Mesua*.

Les canaux sécréteurs se différencient au voisinage des initiales de l'écorce de la radicule ; on peut les suivre dans la très courte tigelle et dans les cotylédons ; les poches sécrétrices sont seulement ici plus nombreuses et plus grandes. Les cellules sécrétrices des canaux et des poches sont très aplaties, le protoplasma est finement granuleux avec de très petites gouttelettes de substances oléagineuses, gouttelettes qu'on trouve d'ailleurs dans la cavité du canal ou de la poche sécrétrice.

L'appareil conducteur, seulement ébauché dans la radicule, un peu différencié dans la tigelle, présente un grand développement dans les cotylédons où il n'y a que des éléments conducteurs secondaires, les primaires ayant disparu. On voit donc ici combien est manifeste cette *accélération basifuge* (1) dans le développement de l'appareil conducteur.

En examinant une coupe transversale faite vers la base du

(1) Chauveaud (*Bull. Soc. Bot. France*, t. LIII, p. 374, 1906).

Digitized by Google

cotylédon, on constate la présence d'un petit nombre de faisceaux libéroligneux correspondant aux nervures et disposés suivant un arc. Ces faisceaux ont tous une structure superposée.

En s'élevant dans le cotylédon, ces faisceaux se ramifient de sorte que vers le milieu du cotylédon on trouve des faisceaux épars dans tout le parenchyme; la plupart de ces faisceaux ont une structure concentrique comme ceux du *Calophyllum Calaba*.

Fig. 4. — Plantule de *Mammea americana*. — Le tégument de la graine a été enlevé; on distingue les deux cotylédons dont un est plus petit que l'autre, les pétioles cotylédonaires très courts, la tigelle tres réduite et la jeune tige dont les premières feuilles sont écailleuses.

Germination.

Les graines de *Mammea americana* que j'ai eues à ma disposition proviennent de la Guadeloupe ; elles ont germé au bout de vingt à trente jours. La radicule sort par une déchirure qui se fait dans la région micropylaire.

D'habitude, une fois la radicule longue de 10 centimètres, les cotylédons commencent à s'écarter un peu par leur base, laissant passage à la gemmule qui seule s'allonge verticalement vers le haut, en poussant assez vite. En somme, le mode de germination de *Mammea* est tout à fait semblable à celui de *Calophyllum*; comme dans le *Calophyllum*, la tigelle est presque nulle et les cotylédons ne subissent aucun accroissement. Une seule remarque est à faire ici, c'est que les pétioles cotylédonaires sont extrêmement court. Les cotylédons restent aussi enfermés dans le tégument de la graine et restent attachés à la plantule jusqu'au complet épuisement de leurs réserves.

Digitized by Google

Racine. — M. Van Tieghem (1), en 1872, a étudié au point de vue de l'appareil sécréteur la racine de *Mammea americana*. Plus tard, en 1887, Mlle Leblois (2) donne des renseignements sur la naissance d'un canal sécréteur dans cette racine. Comme dans les racines du *Calophyllum Calaba* et de *Mesua ferra* les canaux sécréteurs corticaux se différencient avant même l'apparition des premiers tubes criblés ; mais ce n'est qu'au moment où les premiers tubes criblés primaires apparaissent et au niveau où ces tubes criblés se trouvent dans leur phase de différenciation maximum que chaque canal sécréteur a une large lumière.

C'est à un niveau où la coiffe n'est pas encore complètement exfoliée et présente une assise de cellules que dans le cylindre central apparaissent les premiers tubes criblés. A ce niveau, sur une coupe transversale, on remarque une écorce formée de cellules polyédriques plus ou moins arrondies vers la région externe et aplaties dans la région interne ; toutes ces cellules ménagent des méats entre elles.

Les canaux sécréteurs sont disposés suivant deux ou même trois cercles.

L'endoderme ne présente sur les parois de ses cellules aucun épaississement.

Le cylindre central est limité par un péricycle formé d'une seule assise, les premiers tubes criblés sont disposés suivant 8 à 10 groupes formant ainsi huit à dix faisceaux libériens. Dans chaque faisceau, il y a de trois à cinq tubes criblés, de forme losangique ou pentagonale.

Sur des coupes transversales pratiquées de plus en plus loin du sommet de la radicule, on observe d'abord l'apparition de huit à dix faisceaux ligneux entre les faiseaux libériens, puis, à un niveau plus élevé, l'apparition des formations scondaires libéroligneuses et en même temps, dans le liber, l'apparition de canaux sécréteurs d'origine secondaire.

A ce niveau, et plus près des cotylédons, j'ai observé sur la racine principale de nombreuses lenticelles assez grandes, bien

(1) Ph. Van Tieghem, *Mémoire sur les canaux sécréteurs des Plantes* (Ann. des Sc. nat., 5e série, t. XVI, 1872, p. 80).

(2) A. Leblois, *Recherches sur l'origine et le développement des canaux sécréteurs et des poches sécrétrices* (Ann. Sc. nat., 7e série, t. VI, p. 288).

Digitized by Google

visibles à l'œil nu et à large ouverture; leur origine (Pl. XV, fig. 69) est corticale, peu profonde.

On constate, à un moment donné, qu'une assise de cellules corticales périphériques se cloisonne à la manière d'une assise génératrice, formant comme un arc à concavité tournée vers l'extérieur. Les cellules qui dérivent de cette assise soulèvent l'assise subéreuse et les couches de cellules sous-jacentes qui se fendent; les cellules se détachent alors les unes des autres suivant le mode bien connu de la formation des lenticelles. Il est intéressant de noter que la formation des lenticelles et la formation du périderme sont ici disjointes et tout à fait indépendantes.

Ce n'est que très près de la tigelle et quand les formations secondaires libéroligneuses sont très développées, qu'on observe le début de la formation du périderme qui est d'origine péricyclique. Les cellules se divisent activement dans le sens tangentiel et, en même temps, les cellules endodermiques subissent des divisions radiales.

Tigelle et *Cotylédons*. — La tigelle, très courte, est très voisine comme structure de celle de *Calophyllum*. La moelle possède des canaux sécréteurs. Le périderme est d'origine de plus en plus superficielle au fur et à mesure qu'on se rapproche des cotylédons; il présente, de place en place, des lenticelles. Les cotylédons ont la même structure que dans l'embryon non germé.

Ochrocarpus siamensis T. Anders.

Bentham et Hooker placent le genre *Ochrocarpus* avec doute parmi les Garciniées.

M. Van Tieghem (1) le premier, en 1885, met ce genre dans la tribu des Calophyllées. Cette manière de voir est basée sur la disposition des canaux sécréteurs dans la racine; en effet, dans la racine d'*Ochrocarpus siamensis* comme dans celle d'un *Calophyllum* ou d'un *Mammea*, M. Van Tieghem trouve des canaux sécréteurs à la fois dans l'écorce et dans le liber primaire ou secondaire.

(1) Ph. Van Tieghem, *Second mémoire sur les canaux sécréteurs des Plantes* (Ann. Sc. nat., 1885, p. 39, 7e série, t. I).

Digitized by Google

On verra plus loin comment l'étude de l'embryon confirme l'opinion de M. Van Tieghem.

Vesque, en 1893, dans sa monographie, range ce genre, avec beaucoup de doute, dans les Garciniées ; en décrivant l'embryon d'*Ochrocarpus*, il dit : « Embryo macropoda, radicula crassa, cotyledonibus inconscipuis ; » M. Engler (1) en 1895 place *Ochrocarpus* entre *Calophyllum* et *Mammea* et donne pour l'embryon la description suivante : « Embryo mit kurzem Stämmchen und in einen Körper vereinten Keimblatt. » Cette description est très exacte pour ce qui est de l'*Ochrocarpus siamensis*.

L'embryon de l'*Ochrocarpus siamensis* T. Anders. présente une forme ovoïde allongée ; il mesure en général 20 à 25 millimètres de longueur et 10 à 12 millimètres de largeur.

Il présente une radicule extrêmement réduite ; la tigelle n'existe presque pas et les cotylédons forment une masse indivise en apparence, quoiqu'on observe, tant à la base de l'embryon qu'au sommet, une légère dépression en ligne droite dans le sens longitudinal indiquant la soudure des cotylédons.

Sur une coupe transversale menée au milieu de cette masse cotylédonaire, on aperçoit, comme une sorte de boutonnière, une ligne montrant la séparation et l'existence de deux cotylédons, et suivant laquelle les épidermes de ces deux cotylédons restent distincts. Partout ailleurs, dans le prolongement de cette ligne, ces cotylédons sont soudés complètement, les épidermes ne sont plus différenciés (fig. 68, Pl. XV). J'ai également représenté (fig. 67, Pl. XV) à un grossissement plus fort la moitié de cette boutonnière qui est formée par les deux épidermes adhérents, appartenant aux deux cotylédons de l'embryon.

En dehors de la soudure partielle des cotylédons et en dehors de la taille, la forme allongée de l'embryon rapproche l'*Ochrocarpus siamensis* du *Mammea americana*.

La structure des cotylédons est intermédiaire entre la structure des cotylédons de *Calophyllum Calaba* et celle des cotylédons de *Mammea americana*.

L'épiderme est fortement cutinisé. Le parenchyme cotylédonaire est homogène, formé de cellules à membrane peu

(1) A. Engler und K. Prantl, *Die naturlichen Pflanzenfamilien*, t. III, 1895; *Guttiferæ*, p. 220.

Digitized by Google

épaissie, arrondies et allongées dans le sens longitudinal de l'embryon.

Contrairement à l'opinion de M. Heckel (1), de très nombreux canaux sécréteurs, pouvant même se ramifier, sillonnent dans toutes les directions le parenchyme de deux cotylédons d'un embryon même non germé. Les canaux sécréteurs sont exactement pareils aux canaux sécréteurs des cotylédons de *Calophyllum Calaba*; la seule distinction réside dans leur nombre, qui est de beaucoup supérieur et dans leur diamètre en général de beaucoup plus petit. Ils sont schizogènes et non lysigènes comme M. Heckel le croit.

La disposition des faisceaux conducteurs, formant les nervures, se rapproche de la disposition des nervures cotylédonaires du *Mammea americana*. La présence de tels faisceaux conducteurs épars dans la masse tuberculisée montrerait qu'on se trouve en présence de deux cotylédons même si la boutonnière épidermique n'existait pas. En effet, quand la tigelle est tuberculisée les faisceaux conducteurs sont toujours disposés suivant un cercle.

Les faisceaux conducteurs à structure concentrique sont rares, la très grande majorité ayant une structure superposée (fig. 66, Pl. XV).

Germination.

Pierre (2), en décrivant sur place exactement le mode de germination des *Garcinia*, dit qu'il est le même pour le genre *Ochrocarpus*.

Parmi les embryons que j'ai eus à ma disposition, un seul, malheureusement, a présenté un commencement de germination; la radicule sortant de la base des cotylédons est recourbée vers le bas et la jeune tige se dirige dans le sens contraire.

La germination s'est arrêtée et malheureusement je n'ai pas pu voir la racine du pôle opposé à la radicule signalée indirectement par Pierre; je crois que cette racine doit être considérée

(1) E. Heckel, *Sur la formation des canaux sécréteurs dans les graines de quelques Guttifères* (C. R. Acad. des Sc., t. CXXIX, 1899, p. 508-510).
(2) *Loc. cit.*

Digitized by Google

comme analogue, mais non comme homologue à la première racine des *Garcinia* qui est la radicule ; c'est sans doute une racine adventive née sur un cotylédon.

Sur une coupe transversale faite dans une racine principale d'*Ochrocarpus siamensis* pratiquée à un niveau où les formations secondaires libéroligneuses sont développées, on remarque, dans l'écorce bien développée, sous l'assise subéreuse, deux ou trois assises sous-jacentes dont les cellules ont la membrane subérifiée. Le reste de l'écorce est formé par des cellules plus ou moins arrondies, laissant des méats entre elles ; il y a, de plus, un cercle de onze canaux sécréteurs. L'endoderme est formé de cellules un peu aplaties dont les membranes sont entièrement subérifiées.

Dans le cylindre central, on peut distinguer 8 faisceaux libériens et la trace de 8 faisceaux ligneux, car les formations secondaires laissent peu visible la structure primaire qui disparaît vite.

Dans le liber on observe 8 canaux sécréteurs. La région médullaire est entièrement sclérifiée.

Cette structure, par l'aspect du liber et par la disposition des canaux sécréteurs, se rapproche beaucoup plus de la structure d'une racine principale de *Mesua* que de celle d'une racine principale de *Calophyllum* ou de *Mammea*.

La structure de cette racine d'*Ochrocarpus*, est celle qui caractérise les Calophyllées, par suite de la présence de canaux sécréteurs dans l'écorce et dans le liber.

En résumé, on voit que le genre *Ochrocarpus*, par la structure de son embryon, avec ses deux gros cotylédons en partie soudés, et par la structure de sa racine, appartient à la tribu des Calophyllées et non à celle des Garciniées.

RÉSUMÉ DES GUTTIFÈRES

Les Guttifères nous ont montré dans leurs embryons une série de caractères communs qu'on peut résumer comme il suit :

Les graines étant toujours dépourvues d'albumen, les réserves nécessaires à la germination sont toutes contenues dans l'embryon.

Digitized by Google

L'embryon est toujours pourvu de deux cotylédons, ceux-ci peuvent être très gros, formant à eux seuls presque tout l'embryon, la tigelle et la radicule étant très réduites ; ou bien ces cotylédons peuvent être petits, réduits dans certains cas à de simples écailles, la tigelle dans ces cas formant presque tout l'embryon, la radicule étant aussi très réduite.

Ces embryons sont toujours très riches en substances oléorésineuses qui généralement sont déversées dans des canaux ou poches sécrétrices ; dans de très rares cas ces substances restent accumulées dans les cellules qui les ont sécrétées.

Quand il y a des canaux sécréteurs dans l'écorce de la racine, ils se différencient au voisinage des initiales de la radicule avant l'apparition des tubes criblés et se continuent dans la tigelle et dans les cotylédons où ils peuvent se résoudre en poches sécrétrices.

La radicule n'est jamais binaire alors que ce cas est si fréquent chez les Dicotylédones. L'appareil conducteur présente dans la tigelle une disposition superposée. Quand les cotylédons sont écailleux, l'appareil conducteur est à peine ébauché, et quand ils sont tuberculeux ils présentent des faisceaux épars à structure superposée ou même concentrique. *Le périderme de la tigelle est toujours d'origine superficielle.*

La limite entre la racine et la tigelle dans *Xanthochymus* est nettement précisée par l'épiderme et par l'appareil sécréteur; l'écorce de la tigelle présente des canaux sécréteurs qu'on ne retrouve pas dans l'écorce de la racine et le liber de la racine présente des canaux sécréteurs qui ne passent pas dans le liber de la tigelle. L'appareil conducteur ne fournit pas de limite précise, car on retrouve tout à fait à la basede la tigelle une disposition aterne.

En dehors de ces caractères généraux, l'embryon des Guttifères présente toute une série de variations caractéristiques de certains groupes ou de certains genres ; de plus, les divers types d'embryon ont un mode de germination qui leur est propre.

Les *Clusiées* sont caractérisées par une tigelle grosse et par des cotylédons petits, mais bien distincts ; en germant, *la tigelle s'allonge, les cotylédons deviennent foliacés, la radicule devient la racine principale de l'arbre.*

Digitized by Google

Il est intéressant de noter dans ce groupe : l'origine superficielle, non péricyclique du périderme de la racine (*Clusia minor*, *Clusia flava*) ; la présence de canaux sécréteurs corticaux dans la racine et dans la tigelle ; l'absence de canaux sécréteurs dans le liber et dans tout le cylindre central de la racine et de la tigelle ; la présence de canaux sécréteurs dans le pétiole et de poches dans le limbe des cotylédons ; l'épaisseur de la tigelle déterminée par le grand développement de l'écorce, le cylindre central étant réduit.

Les *Moronobées* et les *Garciniées* sont caractérisées par une tigelle tuberculisée énorme, qui forme la presque totalité de l'embryon dont les cotylédons sont réduits à de petites écailles ou à des replis peu marqués. En germant *la tigelle et les cotylédons ne s'accroissent sensiblement pas et les cotylédons restent écailleux* en s'épanouissant ; la radicule s'allonge et se ramifie, mais c'est une *racine adventive*, *qui naît à la base de la jeune tige*, *qui devient la racine principale de l'arbre*.

Chez les *Moronobées*, dans les genres *Symphonia* et *Allanblackia*, l'appareil conducteur forme un anneau continu sur toute la longueur de la tigelle qui est tuberculisée par la moelle. L'appareil sécréteur est très développé dans l'écorce et la moelle de *Symphonia* et il est réduit à quelques petits canaux corticaux superficiels dans le genre *Allanblackia*. Le périderme dans ce dernier genre est très précoce.

Le genre *Pentadesma* est complètement dépourvu de canaux sécréteurs, les produits de sécrétion sont accumulés dans les cellules. Les faisceaux conducteurs sont nettement isolés, disposés en cercle, au milieu d'un parenchyme homogène.

Dans les *Garciniées*, le genre *Xanthochymus* et les *Garcinia* de la section *Mangostana* ont des faisceaux plus ou moins distincts, disposés en cercle au milieu d'un parenchyme formé de cellules toutes semblables. Les *Xanthochymus* ont des canaux sécréteurs dans la moelle et dans l'écorce de la tigelle et les *Garcinia* de la section *Mangostana* ont seulement un ou deux cercles de canaux sécréteurs corticaux dans la tigelle. Le *Garcinia tonkinensis*, qui appartient à cette même section, se rapproche de *Xanthochymus* par la présence de grands canaux sécréteurs dans l'écorce et dans la moelle, tandis que par l'appareil conducteur

Digitized by Google

et par ses réserves oléagineuses, il se rapproche des autres *Garcinia* de la section. Les *Garcinia* de la section *Rhinostigma* ont la tigelle très aplatie, tuberculisée par l'écorce, avec un cylindre central très étroit et distinct ne comptant que trois faisceaux libéroligneux ; les canaux sécréteurs n'apparaissent dans la tigelle qu'au moment de la germination ; ces canaux ne se montrent qu'au sommet de la tigelle.

Les Garciniées et les Moronobées diffèrent donc des Clusiées non seulement par la forme de l'embryon et leur mode de germination, mais aussi par la structure de la plantule : en effet, à l'inverse des Clusiées, la racine possède des canaux sécréteurs dans le liber tandis que l'écorce en est dépourvue, mais, comme dans les Clusiées, le *périderme* est *d'origine superficielle* dans la racine.

Les *Calophyllées* se distinguent des autres Guttifères par les *cotylédons tuberculisés* qui constituent la masse de l'embryon, la tigelle étant très réduite. En germant les cotylédons ne s'accroissent pas et la tigelle ne s'allonge que de quelques millimètres ; *la radicule se développe et devient la racine principale de l'arbre.*

La structure de l'embryon et de la plantule est très semblable dans les Calophyllées : la radicule, la tigelle, les cotylédons possèdent toujours des canaux sécréteurs ; il y a toujours des canaux corticaux dans la racine comme chez les Clusiées, mais il y a en outre des canaux sécréteurs dans le liber secondaire de la racine. La racine principale et les radicelles de *Mammea* présentent des lenticelles qui ne sont pas en rapport avec l'assise subéro-phellodermique. *Le périderme est toujours d'origine péricyclique dans la racine, superficielle dans la tigelle.*

Les cotylédons adhérents dans les *Calophyllum*, *Mesua* et *Mammea* sont en partie soudés dans le genre *Ochrocarpus*.

La tigelle a des canaux sécréteurs dans l'écorce, dans la moelle et dans le liber secondaire ; les cotylédons ont des faisceaux libéroligneux à structure généralement concentrique, épars dans tout leur parenchyme, ainsi que des canaux sécréteurs et des poches. Le pétiole cotylédonaire développe un liège d'origine superficielle présentant des lenticelles.

Digitized by Google

RÉSUMÉ GÉNÉRAL

Les embryons et les plantules des Hypéricacées sont bien distincts des embryons et des plantules de Guttifères.

La racine principale des Hypéricacées est binaire tandis que chez les Guttifères elle possède au moins trois faisceaux (*Garcinia sizygiifolia*), et le plus souvent beaucoup plus.

Les canaux sécréteurs primaires y sont exclusivement d'origine péricyclique, tandis que chez les Guttifères, il y a tantôt des canaux sécréteurs corticaux (Clusiées, Calophyllées) tantôt des canaux sécréteurs dans le cylindre central, mais non péricycliques (Moronobées, Garcinées).

Les Clusiées, Garciniées et Moronobées ont, dans la racine, un périderme d'origine superficielle, mais dans les Calophyllées il est péricyclique comme dans les Hypéricacées.

La tigelle possède un périderme péricyclique dans les Hypéricacées, superficiel dans les Guttifères.

La tigelle est très grêle et à structure binaire dans les Hypéricacées tandis que chez les Guttifères elle est plus ou moins tuberculisée, cylindrique avec 4 faisceaux (Clusiées) ou tuberculisée avec un grand nombre de faisceaux disposés en cercle (Moronobées et Garciniées), ou très courte avec un grand nombre de faisceaux (Calophyllées).

L'étude des genres *Kielmeyera*, *Caraipa*, *Haploclathra*, *Marila*, *Mahurea* et *Endodesmia* serait particulièrement intéressante au point de vue de la constitution de l'embryon et du mode de germination, ainsi que pour la place à leur attribuer dans la classification.

Je me propose d'y revenir ultérieurement.

En résumé, l'étude comparative de la structure des embryons et des plantules chez les Hypéricacées et les Guttifères m'a permis de constater un certain nombre de caractères particuliers à chacune de ces deux familles; j'ai, en outre, signalé plusieurs faits pouvant intéresser l'anatomie générale, notamment l'importance de l'appareil sécréteur, pour établir la distinction complète entre la racine et la tigelle, alors que l'appareil conducteur ne fournit aucune limite précise.

Digitized by Google

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE V

Fig. 1. — *Hypericum perforatum.* Coupe transversale de la racine principale d'une jeune plantule au voisinage du collet. Cylindre central avec, à droite et à gauche un faisceau libérien représenté par un tube criblé et, en haut et en bas, un faisceau ligneux représenté par un vaisseau. Entre le bois et le liber, sur le même cercle, début de quatre canaux sécréteurs d'origine péricyclique.

Fig. 2. — *Hypericum perforatum.* Coupe transversale dans la région médiane de la tigelle d'une jeune plantule avec disposition alterne de l'appareil conducteur.

Fig. 3. — *Hypericum perforatum.* Coupe transversale dans la région basilaire d'un cotylédon d'une jeune plantule.

Fig. 4. — *Hypericum perforatum.* Portion d'une coupe transversale de la tigelle d'une plantule plus âgée; on voit des vaisseaux alternes, des vaisseaux intermédiaires et superposés, ainsi que l'assise génératrice entre le bois et le liber; le péricycle en face du bois primaire se dédouble; sur les flancs de chaque faisceau libérien on voit des canaux sécréteurs.

PLANCHE VI

Fig. 5. — *Hypericum calycinum.* Portion d'une coupe transversale de la tigelle d'une jeune plantule, au voisinage du nœud cotylédonaire.

Fig. 6. — *Hypericum calycinum.* Coupe transversale dans la région médiane d'une tigelle de 4 mm. de long, tout à fait au début de la germination.

Fig. 7. — *Hypericum calycinum.* Coupe transversale du limbe d'un cotylédon.

Fig. 8. — *Hypericum calycinum.* Coupe transversale dans la région basilaire de la même tigelle que dans la figure 6.

Fig. 9. — *Hypericum perforatum.* Coupe transversale d'une tigelle âgée.

PLANCHE VII

Fig. 10. — *Hypericum calycinum.* Coupe longitudinale axiale dans la partie supérieure d'un embryon.

Fig. 11. — *Hypericum Elodes.* Cotylédon âgé montrant à son extrémité un grand stomate aquifère et, de part et d'autre, sur le bord du limbe, plusieurs petits stomates aquifères.

Fig. 12. — *Hypericum Elodes.* Portion d'une coupe transversale de la tigelle.

Fig. 13. — *Hypericum Elodes.* Coupe transversale de la tigelle faite à un niveau moins élevé que dans la figure 12 (la coupe a été photographiée renversée, de sorte que le canal sécréteur au lieu d'être vu à gauche et en haut de la figure, doit être reporté par la pensée à gauche et en bas comme dans la figure 12; le premier vaisseau du bois situé en haut, deviendra ainsi le premier situé en bas).

Fig. 14. — *Haronga paniculata.* Coupe transversale du limbe d'un cotylédon bien épanoui.

Digitized by Google

PLANCHE VIII

Fig. 15. — *Haronga paniculata*. Coupe transversale dans la région médiane de la tigelle d'un embryon.

Fig. 16. — *Haronga paniculata*. Coupe transversale dans la région médiane de la tigelle d'une jeune plantule.

Fig. 17. — *Haronga paniculata*. Coupe transversale de la tigelle de la même plantule, tout près des cotylédons montrant l'apparition, à gauche, d'un faisceau caulinaire.

Fig. 18. — *Haronga paniculata*. Coupe transversale passant par la base des cotylédons entre lesquels on voit la base des deux premières feuilles.

Fig. 19. — *Haronga paniculata*. Portion d'une coupe transversale faite dans la partie médiane de la tigelle d'une plantule plus âgée.

Fig. 20. — *Haronga paniculata*. Coupe transversale de la tigelle d'une même plantule, au voisinage du nœud cotylédonaire montrant la disparition des vaisseaux alternes et l'écrasement des premiers tubes criblés.

Fig. 21. — *Haronga paniculata*. Coupe transversale du pétiole d'un cotylédon âgé.

PLANCHE IX

Fig. 22. — *Haronga paniculata*. Portion d'une coupe transversale de tigelle âgée près de la base des cotylédons.

Fig. 23. — *Clusia rosea*. Coupe transversale de la tigelle d'un embryon.

Fig. 24. — *Clusia rosea*. Coupe longitudinale axiale d'un embryon, région radiculaire.

Fig. 25. — *Clusia rosea*. Coupe longitudinale axiale d'un embryon, cotylédons et gemmule. A droite un canal sécréteur monte de la tigelle dans le cotylédon ; à gauche, ébauche de l'appareil conducteur.

Fig. 26. — *Allanblackia Sacleuxii*. Portion de la coupe transversale de la tigelle d'un embryon montrant l'écorce avec trois canaux sécréteurs très petits et l'origine du périderme.

Fig. 27. — *Allanblackia Sacleuxii*. Portion de coupe transversale de la tigelle d'un embryon montrant l'appareil conducteur.

Fig. 28. — *Allanblackia Sacleuxii*. Portion de coupe transversale de tigelle âgée de trois ans.

PLANCHE X

Fig. 29. — *Xanthochymus pictorius*. Coupe longitudinale axiale d'un embryon montrant les deux cotylédons et la gemmule ; la coupe passe obliquement à droite à travers le canal sécréteur.

Fig. 30. — *Xanthochymus pictorius*. Portion de coupe transversale de la tigelle d'un embryon, montrant la tendance des faisceaux à la structure concentrique.

Fig. 31. — *Xanthochymus pictorius*. Coupe transversale de la radicule d'une plantule menée tout près du sommet montrant une ou deux assises de petites cellules de la coiffe, une assise sous-jacente allongée radialement qui est l'assise pilifère en dedans, une autre assise différenciée qui est l'assise subéreuse : les tubes criblés ont leur membrane très épaissie et sont dans leur phase de différenciation maximum.

Fig. 32. — *Xanthochymus pictorius*. Coupe transversale pratiquée à un niveau plus élevé que dans la figure 31 de la même radicule.

Fig. 33. — *Xanthochymus pictorius*. Coupe transversale de la même radicule pratiquée à un niveau plus élevé que dans la figure 32.

Digitized by Google

Fig. 34. — *Xanthochymus pictorius*. Portion de coupe transversale de la même radicule montrant les épaississements de l'assise subéreuse.
Fig. 35. — *Xanthochymus pictorius*. Coupe transversale de la même radicule à un niveau plus élevé que dans la figure 33.
Fig. 36. — *Xanthochymus pictorius*. Coupe transversale de la même radicule, dans la région basilaire, non loin de la tigelle.

PLANCHE XI

Fig. 37. — *Xanthochymus pictorius*. Terminaison par oblitération d'un canal sécréteur à la base de la tigelle.
Fig. 38. — *Xanthochymus pictorius*. Portion d'une coupe transversale de la tigelle, menée au voisinage du collet montrant l'oblitération des canaux sécréteurs et la formation du périderme.
Fig. 39. — *Xanthochymus pictorius*. Portion d'une coupe transversale pratiquée vers la base de la tigelle (à un niveau plus élevé que dans la figure 38) d'une plantule, et montrant l'origine superficielle du périderme et les canaux sécréteurs.
Fig. 40. — *Xanthochymus pictorius*. Portion d'une coupe transversale correspondant à la figure 38, et montrant le cylindre central avec trace de disposition alterne.
Fig. 41. — *Xanthochymus pictorius*. Portion d'une coupe transversale correspondant à la figure 39 et montrant le cylindre central.
Fig. 42. — *Xanthochymus pictorius*. Portion d'une coupe transversale pratiquée dans le tiers supérieur de la tigelle.
Fig. 43. — *Xanthochymus pictorius*. Portion d'une coupe transversale menée près du sommet de la première racine adventive montrant des groupes de tubes criblés dans leur phase de différenciation maximum.
Fig. 44. — *Xanthochymus pictorius*. Portion d'une coupe tranversale de la même racine à un niveau plus élevé montrant les faisceaux ligneux différenciés.

PLANCHE XII

Fig. 45. — *Xanthochymus pictorius*. Coupe transversale du nœud cotylédonaire d'une plantule.
Fig. 46. — *Xanthochymus pictorius*. Coupe transversale d'un des cotylédons d'une plantule.
Fig. 47. — *Pentadesma butyracea*. Portion de coupe transversale d'une tigelle montrant une partie de l'écorce.
Fig. 48. — *Pentadesma butyracea*. Portion de la même coupe transversale montrant un faisceau conducteur uniquement libérien.
Fig. 49. — *Garcinia porrecta*. Portion de coupe transversale de la tigelle d'un embryon montrant des canaux sécréteurs vers la périphérie de l'écorce.
Fig. 50. — *Garcinia porrecta*. Portion de la même coupe transversale montrant les faisceaux conducteurs avec l'endoderme caractéristique.
Fig. 51. — *Garcinia cornea*. Coupe transversale d'une radicule anormale.

PLANCHE XIII

Fig. 52. — *Garcinia sizygiifolia*. Portion d'une coupe transversale de la tigelle d'un embryon.
Fig. 53. — *Garcinia sizygiifolia*. Même coupe avec cylindre central à un plus fort grossissement.
Fig. 54. — *Garcinia sizygiifolia*. Portion de la même coupe montrant des matières grasses cristallisées en longues et fines aiguilles.

Digitized by Google

Fig. 55. — *Garcinia sizygiifolia*. Coupe transversale de la radicelle d'une plantule.

Fig. 56. — *Garcinia sizygiifolia*. Coupe transversale de la tigelle au voisinage de la tige montrant le début du périderme épidermique et les canaux sécréteurs à la périphérie de l'écorce.

PLANCHE XIV

Fig. 57. — *Calophyllum Calaba*. Coupe transversale vers le sommet de la radicule d'une plantule, montrant seulement les faisceaux libériens développés.

Fig. 58. — *Calophyllum Calaba*. Portion de l'écorce d'une racine montrant un canal sécréteur se divisant.

Fig. 59. — *Calophyllum Calaba*. Cylindre central d'une racine anormale; coupe menée près de la tigelle.

Fig. 60. — *Calophyllum Calaba*. Coupe transversale passant par les pétioles cotylédonaires de la périphérie, périderme très développé avec nombreuses lenticelles.

Fig. 61. — *Calophyllum Calaba*. Coupe transversale d'une radicule âgée montrant le début du périderme péricyclique.

Fig. 62. — *Calophyllum Calaba*. Parenchyme, canaux sécréteurs et faisceaux concentriques d'un cotylédon.

Fig. 63. — *Calophyllum Calaba*. Lenticelle sur le pétiole cotylédonaire.

Fig. 64. — *Calophyllum Calaba*. Coupe transversale d'une racine anormale (figurée dans sa région basilaire, fig. 59) montrant un petit cordon médullaire avec trois groupes de tubes criblés et trois groupes de vaisseaux, disposés suivant deux arcs concentriques.

PLANCHE XV

Fig. 65. — *Mammea americana*. Coupe longitudinale d'un embryon dont les cotylédons sont représentés seulement par leur base.

Fig. 66. — *Ochrocarpus siamensis*. Parenchyme et faisceau cotylédonaire.

Fig. 67. — *Ochrocarpus siamensis*. Coupe transversale montrant la soudure des cotylédons, sauf sur un petit espace où les épidermes sont distincts.

Fig. 68. — *Ochrocarpus siamensis*. Coupe transversale à un fort grossissement des cotylédons, montrant la petite boutonnière centrale où les épidermes sont distincts.

Fig. 69. — *Mammea americana*. Lenticelle d'une radicule.

Digitized by Google

RECHERCHES SUR LES CUPULIFÈRES

Par M. Léon PAUCHET

INTRODUCTION

On sait que les Cupulifères sont des Dicotylédones apétales présentant un ovaire infère. Cette famille comprend les groupes suivants : les *Corylées*, à fleurs mâles dépourvues de calice, et les *Fagées* dont les fleurs mâles et femelles ont un calice. Les *Bétulées*, que l'on comprend quelquefois parmi les Cupulifères, n'ont pas de calice aux fleurs femelles. Ce sont les principales espèces de ces deux groupes, celles que l'on rencontre plus particulièrement dans nos régions, qui ont été étudiées ici : les recherches ont porté sur les fleurs, les fruits et l'embryon des *Corylus Avellana* et *Carpinus Betulus* (*Corylées*), *Fagus silvatica*, *Quercus Robur* et *Castanea vulgaris* (*Fagées*). La morphologie générale de ces diverses espèces a été intentionnellement laissée de côté. Divers ouvrages classiques (1) donnent sur l'appareil végétatif des Cupulifères d'excellentes descriptions.

Mais les études qui suivent ne visent que l'anatomie comparée des espèces citées plus haut, au point de vue de la cupule, de l'anthère, du style, de l'ovaire et de l'embryon.

Les cupules et les bractées ont été étudiées comparativement dans le premier chapitre.

Dans le second chapitre, il est traité de la fleur mâle, du développement de l'anthère, de sa structure et de sa déhiscence.

L'anatomie comparée des styles et l'étude de l'appareil conducteur font l'objet du troisième chapitre.

Les deux derniers chapitres contiennent : l'un quelques considérations sur les ovules au sujet de la fécondation et de l'avortement ; l'autre, l'étude du développement de l'embryon jusqu'à la maturité de la graine.

(1) Baillon, *Hist. des plantes*, VI, 227, 1878.
Engler et Prantl, *Pflanzenfamilien*, III, Teil, 1894, p. 38 et 47.
Solereder, *Systematische Anatomie*, p. 895.

Digitized by Google

Ce travail a été fait au Laboratoire de Botanique de la Sorbonne, sous la direction de M. le Professeur Gaston Bonnier. Qu'il me permette de le remercier ici pour les nombreux encouragements et les précieux conseils qu'il m'a donnés. Je le prie d'accepter l'hommage de ce modeste travail et l'assurance de ma bien vive gratitude.

CHAPITRE PREMIER

RELATIONS ENTRE LES CUPULES, LES BRACTÉES ET LES ÉCAILLES DE BOURGEONS

On sait que les cupules enveloppant les fruits des différentes espèces de Cupulifères se présentent sous un aspect morphologiquement différent. Chez les *Corylées*, cet organe est foliacé, d'aspect trilobé chez le Charme et n'entourant le fruit que d'un côté, complètement enveloppant chez le *Corylus*. Les *Fagées* présentent une cupule plus épaisse et portant souvent sur sa surface des émergences écailleuses régulièrement disposées (*Castanea*, *Fagus*). Les auteurs ont donné à cette cupule une origine diverse : les uns, Schacht (1) et Payer (2), la considèrent comme de nature pédonculaire ; Schacht désigne la cupule du Chêne sous le nom de disque, et Payer la regarde comme un repli du pédoncule. M. Van Tieghem (3) considère la cupule comme formée de bractées soudées par leurs bords sur une longueur variable suivant les espèces. En étudiant l'anatomie comparée des cupules, des bractées et des écailles de bourgeons, nous verrons quels sont les rapports qu'il convient d'établir entre ces organes. Nous rechercherons ensuite laquelle des deux théories doit prévaloir. Pour cette étude, la comparaison a été établie entre les différents organes d'une même espèce, puis chez les différentes espèces

De cette façon, il sera possible d'étudier les modifications subies par la bractée en vue des fonctions nouvelles de protection et de soutien qu'elle aura à remplir. L'étude particulière de la cupule de *Fagus silvatica* permettra de se rendre compte de la valeur des

(1) Schacht, *S. Beitræge zur Anatomie und Physiologie*, v. Lehrl, II, 140 Der Baum, 4.
(2) Payer, *Fam. nat.*, 164.
(3) Van Tieghem, *Traité de Botanique*, p. 1419.

Digitized by Google

deux hypothèses émises, celle qui attribue à cette cupule une origine pédonculaire ou celle qui lui donne une origine foliaire.

CORYLUS AVELLANA.

Bractée. — Une bractée de Noisetier présente sur ses deux faces un épiderme dont quelques cellules donnent des poils simples. Ces poils sont de deux sortes (fig. 1), les uns allongés, les autres renflés en massue avec une zone claire au centre de ce renflement. Les poils se lignifient de bonne heure et leur contenu protoplasmique se porte vers l'extrémité du poil, où il se rassemble en formant un amas granulé à section triangulaire. Les poils renflés sont des poils sécréteurs; on les retrouve chez toutes les Cupulifères avec les mêmes caractères; les autres sont des poils protecteurs.

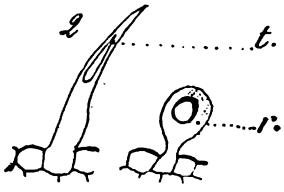


Fig. 1. — Bractée de *Corylus Avellana.* — Poils : *t*, poil protecteur ; *r*, poil sécréteur.

Les cellules sous-épidermiques sont collenchymateuses, sauf celles confinant à l'épiderme supérieur qui, dans la bractée

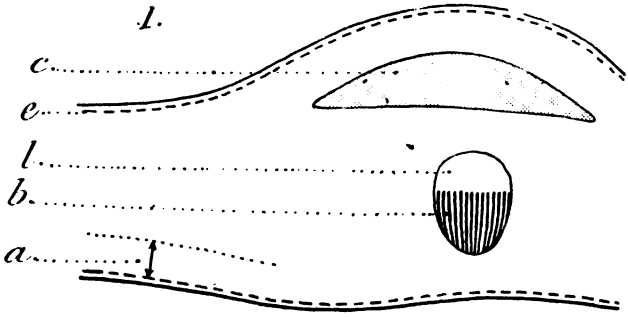


Fig. 2. — Bractée de *Corylus Avellana* : *e*, épiderme ; *c*, collenchyme ; *f*, faisceau libéroligneux ; *b*, bois ; *l*, liber ; *a*, assise palissadique.

jeune, sont allongées radialement ; elles constituent l'assise palissadique (fig. 2).

L'intervalle compris entre cette assise et l'épiderme inférieur est formé de cellules épaissies à méats, mais il n'y a pas à proprement parler de parenchyme lacuneux. Les faisceaux libéroligneux présentent la disposition suivante : du côté de l'épiderme externe se trouvent les cellules libériennes dis-

Digitized by Google

posées en lignes sinueuses, quelquefois arquées ; les éléments ligneux sont disposés en files radiales séparées par quelques rayons médullaires à parois minces. Tout autour des faisceaux ligneux se trouvent quelques cellules polyédriques, différentes du parenchyme fondamental. Il faut noter aussi une zone de répartition de l'oxalate de chaux localisée du côté externe entre la quatrième et la cinquième assise sous-épidermique.

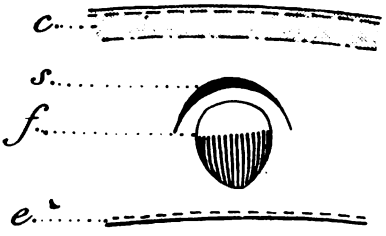


Fig. 3. — Écaille de bourgeon de *Corylus Avellana* : *s*, sclérenchyme ; *c*, collenchyme ; *f*, faisceau libéroligneux ; *e*, épiderme.

Écaille des bourgeons. — L'écaille externe des bourgeons se distingue de la bractée par un commencement de différenciation autour des faisceaux libéroligneux d'un arc sclérenchymateux, sur l'emplacement même des cellules polyédriques entourant les faisceaux (fig. 3). La zone de répartition des cristaux mâclés d'oxalate de chaux est la même, et le liber conserve sa disposition typique signalée pour la bractée.

Quant à l'épiderme, il se cutinise davantage et des assises de liège se forment parfois du côté externe. Les poils sont de deux sortes et identiques à ceux décrits plus haut.

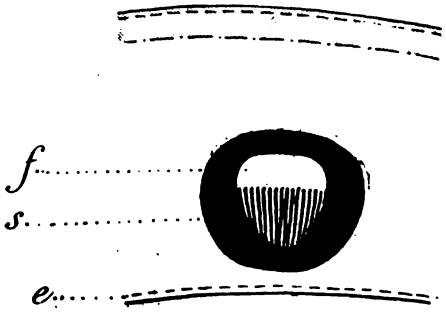


Fig. 4. — Cupule de *Corylus Avellana*. — Mêmes lettres, mêmes désignations.

Le parenchyme dans le voisinage de l'épiderme est constitué par des cellules collenchymateuses.

Cupule. — La cupule montre une différenciation plus avancée encore des éléments cellulaires. L'épaisseur de la bractée s'est accrue et l'anneau sclérenchymateux entourant les faisceaux libéroligneux s'est étendu jusqu'au voisinage de l'épiderme. Le parenchyme qui sépare les nervures reste cellulosique. Le bois et le liber affectent la même dis-

Digitized by Google

position que dans l'écaille de bourgeon et il est à remarquer que la zone principale de mâcles d'oxalate de chaux occupe encore la cinquième assise sous-épidermique (fig. 4).

Quant aux poils, ils sont nombreux, développés du côté interne et surtout du côté externe.

En résumé, on assiste à une différenciation progressive des éléments cellulaires de la bractée, quand celle-ci se développe en vue d'un rôle particulier à remplir. L'écaille de bourgeon différencie du sclérenchyme autour des faisceaux libéroligneux et du liège à la partie périphérique. La cupule présente une sclérification plus prononcée encore et les poils remplacent ici le liège. Le rôle de protection et de soutien attribué à ces deux organes amène donc une modification particulière de leurs éléments, leur origine restant la même malgré tout.

Carpinus betulus.

Bractée. — La bractée du Charme est identique à celle du Noisetier. Ces deux genres ont des affinités communes, tant au point de vue morphologique qu'au point de vue anatomique. La seule différence notée (et encore est-elle peu importante) résulte dans ce fait que chez le *Carpinus*, le liber ne présente pas la disposition sinueuse ou arquée du Noisetier, mais un arrangement sans direction particulière.

Écaille des bourgeons. — L'écaille des bourgeons présente, sous l'épiderme externe cutinisé, deux assises de cellules allongées tangentiellement et la troisième assise est celle où se trouvent localisées les mâcles d'oxalate de chaux.

Le faisceau libéroligneux est entouré d'un arc sclérenchymateux, non encore complètement enveloppant. Le parenchyme extérieur aux faisceaux présente des cellules arrondies avec méats. Il n'y a aucune trace de parenchyme lacuneux; les cellules avoisinant l'épiderme inférieur sont identiques à celles de l'épiderme supérieur.

Cupule. — Si l'on étudie maintenant la cupule, on remarque, comme chez le Noisetier, une sclérification plus prononcée dans la zone de cellules entourant le faisceau libéroligneux.

L'anneau est développé et la sclérification s'étend de part et

Digitized by Google

d'autre de ces faisceaux du côté de l'épiderme; entre les nervures, le parenchyme reste cellulosique. Moins nombreux que chez le Noisetier, les poils se rencontrent sur les deux faces de la cupule.

Les modifications subies par la bractée sont donc les mêmes que celles observées pour le Noisetier.

Quercus robur.

Écaille des bourgeons. — Une coupe transversale pratiquée dans une écaille d'un bourgeon de *Quercus* permet de distinguer: un épiderme cellulosique sur les deux faces, avec une cuticule nette du côté externe; un parenchyme cellulosique formé de cellules collenchymateuses dans la région sous-épidermique, et, de place en place, quelques îlots de fibres scléreuses (fig. 5). Les faisceaux libéroligneux sont entourés par un arc de sclérenchyme non encore complètement différencié. Le bois est presque entouré par le liber qui, par endroits, est complètement enveloppant; il n'a plus la disposition en files radiales caractéristique des *Corylées*. Sous l'épiderme se trouvent une ou deux assises de cellules collenchymateuses. Les poils sont peu nombreux; à noter, la formation de liège dans les écailles les plus extérieures. Cette production de liège est d'ailleurs la seule différence importante relevée entre la bractée et l'écaille de bourgeon, à part le développement moins prononcé et moins étendu de sclérenchyme, dans la bractée.

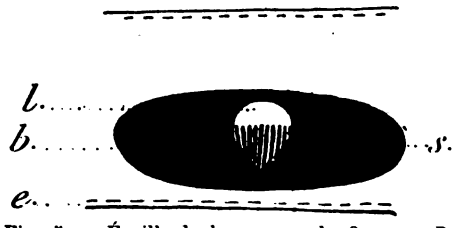


Fig. 5. — Écaille de bourgeon de *Quercus Robur* : *l*, liber; *b*, bois; *s*, sclérenchyme.

Cupule. — La structure de la cupule du Chêne diffère de celle des *Corylées* (fig. 6); elle est fort épaissie, couverte de poils et d'émergences écailleuses; son épiderme est formé de petites cellules allongées tangentiellement; le parenchyme sous-jacent cellulosique présente de grandes cellules arrondies avec méats, rarement polyédriques. Dans ce parenchyme se trouvent

Digitized by Google

des îlots de grosses fibres sclérenchymateuses formées de cellules à parois épaisses et dont la cavité est presque complètement oblitérée. Ces fibres sont courtes, grosses, réunies en plus ou moins grand nombre en nodules, séparés les uns des autres par du parenchyme ordinaire (cellules arrondies). Les faisceaux libéro-ligneux parcourent la cupule en se rapprochant de la face interne; le bois, allongé, plus ou moins en files radiales, est recouvert par un liber qui n'est jamais enveloppant. De ce groupe de faisceaux s'en détachent d'autres qui vont, à divers niveaux, irriguer les émergences de la cupule (productions foliacées qui ont reçu le nom de squamules).

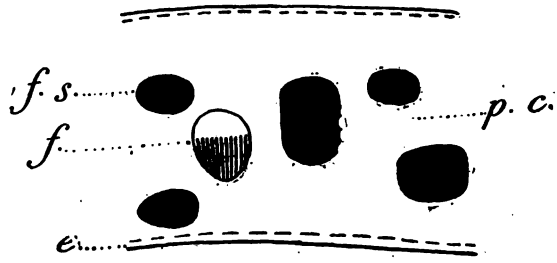


Fig. 6. — Cupule de *Quercus Robur* : *fs*, fibres de sclérenchyme; *pc*, parenchyme cellulosique.

Les poils sont nombreux sur les deux faces de la cupule; ils affectent les formes principales déjà décrites au sujet de *Corylus*.

Les caractères distinctifs de chaque organe foliaire peuvent être résumés comme il suit :

Écaille des bourgeons. — Parenchyme cellulosique et scléreux avec sclérenchyme mieux différencié que dans la bractée. — Liège.

Cupule. — Ilots de sclérenchyme à fibres fortement épaissies, dans un parenchyme cellulosique (cellules avec méats). Productions écailleuses (squamules). Poils nombreux.

Castanea vulgaris.

Bractée. — Une bractée de Châtaignier présente un épiderme formé de petites cellules allongées tangentiellement, et un parenchyme sous-épidermique cellulosique légèrement collenchymateux, formé de cellules à méats dans la région intermédiaire, mais ne constituant pas à proprement parler un parenchyme lacuneux.

Digitized by Google

Les faisceaux libéroligneux présentent un liber non enveloppant disposé en arc au-dessus des cellules ligneuses; celles-ci n'ont pas toujours la disposition en files radiales; parfois elles sont étendues tangentiellement (fig. 7).

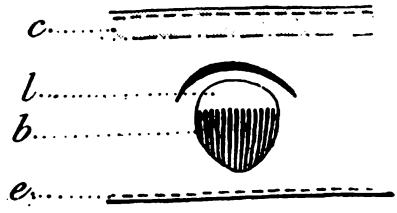


Fig. 7. — Bractée de *Castanea vulgaris*. — Mêmes lettres que plus haut.

Un anneau de sclérenchyme entoure le faisceau libéroligneux; cet anneau est complet autour des faisceaux constituant les principales nervures (centrale et latérale), incomplet dans les nervures terminales.

Écaille des bourgeons. — L'écaille des bourgeons présente aussi un parenchyme cellulosique avec cellules, les unes sous-épidermiques, collenchymateuses, les autres (celles qui sont comprises entre les vaisseaux) arrondies avec méats.

De place en place, on remarque quelques cellules qui épaississent leurs parois pour devenir sclérenchymateuses; elles apparaissent dans la zone sous-épidermique, du côté externe (fig. 8).

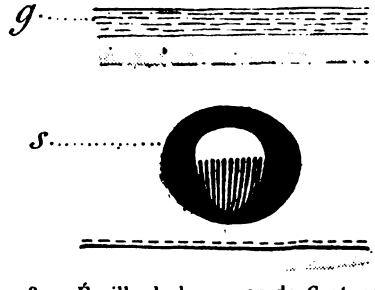


Fig. 8. — Écaille de bourgeon de *Castanea vulgaris* : *g*, liège.

Les faisceaux libéroligneux sont disposés ici comme dans la bractée, avec cette légère différence que la disposition du bois en files radiales est mieux prononcée. L'anneau sclérenchymateux existe autour de chaque faisceau et le recouvre totalement.

Du liège se forme de bonne heure par le cloisonnement de l'assise immédiatement sous-épidermique; quatre à cinq assises de cellules subéreuses recouvrent les écailles de bourgeon les plus externes.

Cupule. — La cupule diffère de l'écaille des bourgeons par les amas de cellules scléreuses qu'elle présente à l'intérieur d'un parenchyme cellulosique comme celui de la bractée (fig. 9). Ces cellules scléreuses groupées de six à dix sont, comme celles du Chêne, fortement épaissies, à cavité

Digitized by Google

presque oblitérée par les épaississements progressifs des parois.

Les faisceaux libéroligneux sont répartis ici à différents niveaux dans la cupule ; une première zone se remarque du côté interne, parallèlement à la face intérieure de la cupule ; une autre du côté externe et une troisième intermédiaire. On verra plus loin, après l'étude du *Fagus silvatica*, quelle signification on doit attribuer à cette disposition particulière des faisceaux libéroligneux à plusieurs niveaux en épaisseur dans la cupule. On remarquera, dès maintenant, que leur section transversale ne présentant aucune obliquité dans leur direction, il ne saurait être question d'un passage de l'un à l'autre à une hauteur quelconque dans la cupule.

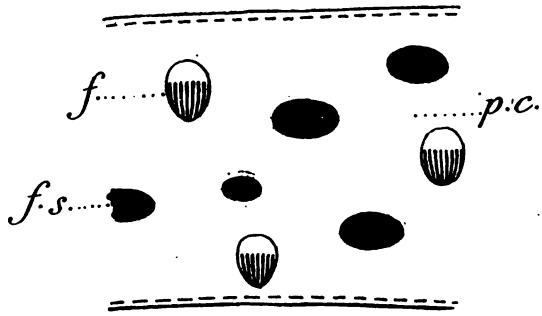


Fig. 9. — Cupule de *Castanea vulgaris*. Mêmes lettres que pour le *Quercus*.

Il existe aussi, dans la cupule du Châtaignier, des squamules foliacées qui la recouvrent irrégulièrement et des poils fort nombreux. Quant aux nombreux piquants qui la recouvrent, ils ont été l'objet d'une étude particulière (1).

Chaque faisceau libéroligneux comprend des vaisseaux de bois annelés, spiralés et ponctués, recouverts par le liber qui a une tendance à devenir enveloppant.

En coupe longitudinale, on observe une quantité considérable de mâcles d'oxalate de chaux, lesquelles sont surtout localisées entre les vaisseaux du bois et ceux du liber. Cette remarque s'applique également à la cupule du Chêne et à celle du Hêtre.

On pourra noter ici que le liège et les poils existent rarement ensemble. Dans l'écaille de bourgeon, presque dépourvue de poils, le liège forme quatre à cinq assises sous-épidermiques ; dans la cupule, qui est protégée par un feutrage complet de poils et

(1) M. A. Lothelier, *Recherches anatomiques sur les épines et les aiguillons des plantes*, Revue génér. de Bot., t. V, 1892.

Digitized by Google

d'aiguillons, le liège n'existe pas. Ce fait a déjà été constaté à propos d'autres espèces étudiées précédemment : on en verra encore une confirmation dans l'étude du Hêtre.

Fagus silvatica.

Bractée. — Une coupe transversale d'une bractée de Hêtre montre un épiderme externe et interne à cellules allongées tangentiellement ; l'assise palissadique, représentée dans les bractées jeunes, se cloisonne de bonne heure dans le sens tangentiel et

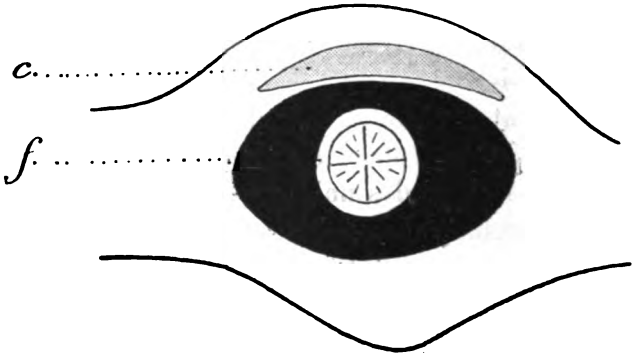


Fig. 10. — Bractée de *Fagus silvatica.*

finit par ne plus se distinguer du parenchyme de la bractée adulte. Ce parenchyme, homogène sur les deux faces de la bractée, est formé de cellules polyédriques légèrement collenchymateuses, tandis que le parenchyme central est formé de cellules arrondies avec méats (fig. 10).

Chaque nervure de la feuille comprend un faisceau libéroligneux entouré par un anneau de sclérenchyme. Le bois se présente en files radiales disposées toutes autour d'un petit cercle constitué par quelques cellules non lignifiées. Chaque file radiale de cellules ligneuses est entourée d'un arc de liber qui a une tendance à devenir enveloppant, les quelques rayons médullaires sont peu apparents, toujours étroits et quelquefois nuls entre chaque zone libéroligneuse. Cette disposition, on le verra, persistera partout au fur et à mesure de l'évolution de la bractée.

Digitized by Google

Un arc de sclérenchyme, quelquefois complètement enveloppant, entoure chaque faisceau.

Écaille des bourgeons. — A part les deux épidermes, on ne trouve rien de cellulosique ; le parenchyme est sclérifié, les fibres sont longues et peu épaissies ; seules, celles qui avoisinent chaque faisceau sont plus épaisses. La disposition du bois et du liber est la même que pour la bractée ; le liber tend à devenir de plus en plus enveloppant et il n'y a plus aucune trace d'assise palissadique (fig. 11).

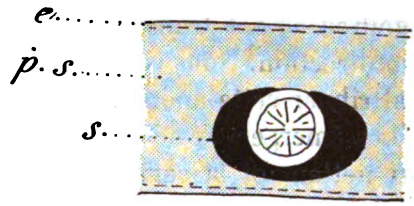


Fig. 11. — Écaille de bourgeon de *Fagus silvatica*.

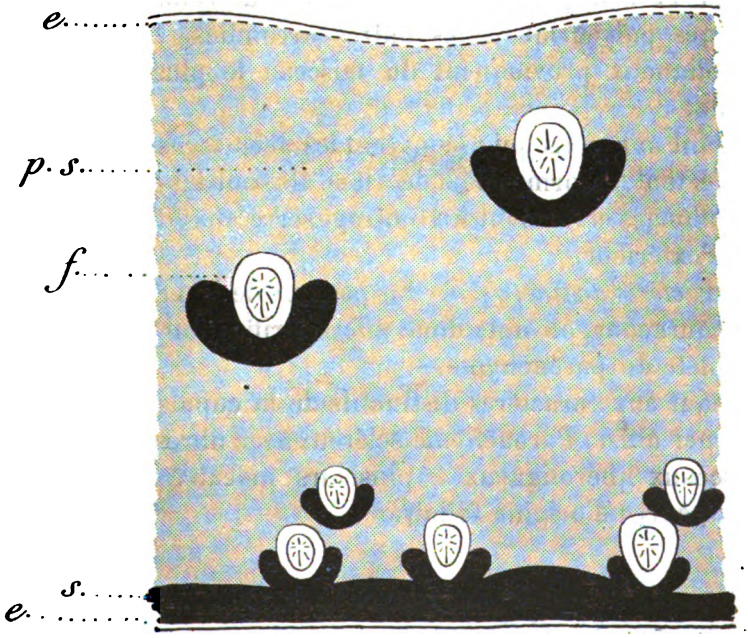


Fig. 12. — Cupule de *Fagus silvatica* : *ps*, parenchyme sclérifié.

Cupule. — La différenciation s'accentue quand on envisage la structure de la cupule.

Une coupe pratiquée dans la partie moyenne de la cupule (fig. 12) montre un parenchyme complètement sclérifié avec fibres de deux sortes : les unes, longues et épaissies, situées à la

Digitized by Google

partie inférieure de la cupule, les autres, moins longues et moins épaisses, avoisinant les faisceaux.

Les faisceaux vasculaires sont disposés, comme dans la cupule du Châtaigner, suivant trois niveaux différents, et une coupe rigoureusement transversale n'indique aucune obliquité dans leur direction. Nous verrons plus loin à quelles causes il convient d'attribuer cette anomalie apparente.

Les émergences de la cupule, situées toutes du côté externe, ont nettement la caractéristique des bractées et doivent être considérées comme des productions d'origine foliaire. Les unes sont étalées en forme d'écailles, les autres sont moins allongées et affectent une forme arrondie au sommet, rétrécie à la base. Toutes ont les caractères des bractées et doivent en être rapprochées. Leur épiderme est en continuité avec celui de la cupule et leur parenchyme est formé de cellules avec méats, les unes polyédriques, les autres arrondies. Leurs faisceaux libéroligneux proviennent du faisceau le plus externe de la cupule.

Quant aux poils qui recouvrent les deux faces de cet organe, ils affectent les formes déjà décrites. Ils sont ici plus nombreux, plus allongés et forment un feutrage serré aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur.

Caractères distinctifs. — En passant de la bractée à l'écaille des bourgeons, on note donc une sclérification de plus en plus complète du parenchyme.

Quant aux caractères distinctifs de la cupule, ils peuvent se résumer ainsi : Parenchyme scléreux avec fibres de deux sortes. Faisceaux libéroligneux à plusieurs niveaux dans la cupule. Émergences d'origine foliaire.

Formation de la cupule.

Pour mieux suivre la marche de la formation de la cupule, il importe de se reporter à la disposition de l'inflorescence femelle. Cette inflorescence est une cyme bipare (fig. 13) ; pour un groupe de trois fleurs, on remarque : une bractée axillante Bx, deux autres bractées B, à la base de la fleur de première génération F_1, et de chaque côté deux autres bractées b à la base des

Digitized by Google

fleurs de seconde génération F_1 et F_2. Cette disposition type de l'inflorescence est complètement réalisée dans le *Castanea vulgaris* (fig. I). Chez le *Fagus silvatica* (fig. II), que l'on prend ici comme exemple, les bractées B et la fleur correspondante F_1 ne se développent point; dans le *Quercus Robur*, ces mêmes

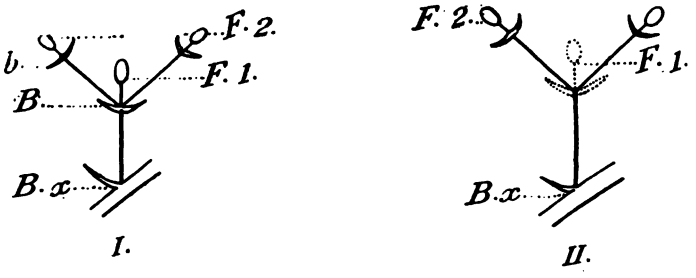


Fig. 13. — I. Inflorescence de *Castanea vulgaris*. — II. Inflorescence de *Fagus silvatica* ; *Bx*, bractée axillante ; *B*, bractée de la fleur F_1 de première génération ; *bb*, bractées des fleurs de seconde génération F_2 et F_3. La bractée *B* et la fleur F_1 ne sont pas représentées en II.

bractées n'existent point, mais la fleur F_1 subsiste toujours; par contre les fleurs de deuxième génération F_2 et F_3 ne sont pas représentées, mais les bractées *b* subsistent.

Étudions maintenant la cupule du *Fagus* en coupes transversales et en coupes longitudinales.

Si l'on fait des coupes en séries à partir de la base de la cupule en allant vers la partie moyenne de l'organe, on note d'abord une structure pédonculaire bien nette.

A un niveau un peu plus élevé, on voit les faisceaux, groupés à chaque angle, se diviser et donner des faisceaux latéraux destinés aux bractéoles qui persistent sur le pédoncule ; leur point d'insertion se trouve sur le pédoncule mais au-dessous de la cupule.

A un niveau un peu plus élevé encore, à l'endroit même où la coupe s'élargit, on remarque, au centre du pédoncule, deux cercles de faisceaux libéroligneux, qui se continuent sans modification aucune jusqu'à la base de l'ovaire; chacun des faisceaux les plus externes se divise en trois branches, ce qui donne en définitive, pour l'ensemble de la coupe, quatre groupes de trois faisceaux (un à chaque angle du quadrilatère pédonculaire).

Digitized by Google

Ces faisceaux sont destinés aux bractées *b* et à leurs bractéoles; ils parcourent la cupule pour se terminer aux extrémités mêmes des organes qui la constituent.

Une coupe longitudinale axiale pratiquée dans une cupule jeune (fig. 14) permet de suivre l'ensemble du trajet des vaisseaux indiqués en coupe transversale. Les faisceaux les plus intérieurs F_1 appartiennent au pédoncule, ils se ramifient dans la partie sous-jacente à l'ovaire ; immédiatement au-dessus, on remarque les faisceaux en arc de la partie basilaire de l'ovaire.

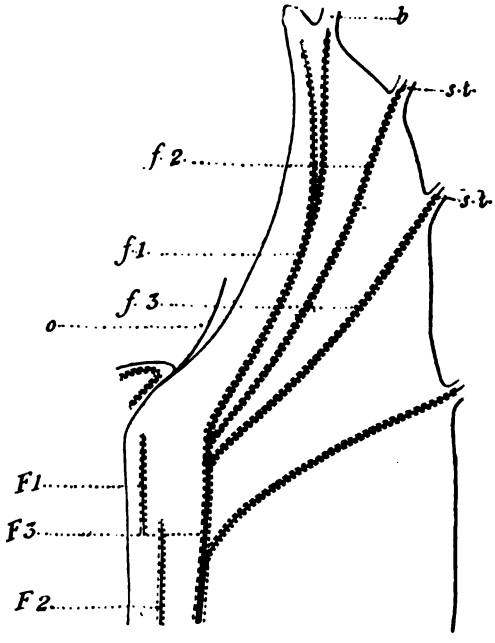


Fig. 14. — Passage des faisceaux du pédoncule dans la cupule de *Fagus silvatica*. — F_1, F_2, F_3, faisceaux du pédoncule; F_3, donne f_1, f_2 et f_3; *o*, ovaire; *b*, bractées; *st st*, stipules de *b*.

Le groupe de faisceaux F_2, toujours caractérisé par le bois intérieur et le liber externe et enveloppant, s'arrête avant la limite atteinte par le premier.

Quant au groupe le plus externe F_3, il donne directement les faisceaux destinés aux bractées.

La bractéole du pédoncule est vascularisée, et son point d'attache se trouve au-dessous de la cupule ; puis les bractées secondaires *b* et leurs bractéoles *st* reçoivent à leur tour les ramifications du faisceau F_3. Ce passage s'effectue au même point pour ces trois organes foliaires (fig. 14) ; ce sont donc trois bractées insérées sur le pédoncule au même niveau. Suivons ces ramifications dans leur course au travers de la cupule, et désignons-les en allant de la face interne à la face externe par f_1, f_2, f_3.

Digitized by Google

Le faisceau f_1 chemine le long de la cupule, à peu de distance de la face interne ; aux deux tiers inférieurs de sa course, il se dédouble, par suite d'un accroissement prédominant de la cupule du côté interne, une partie avoisinant la face interne, l'autre partie se rendant directement dans la partie libre de la bractée *b* dont on aperçoit nettement l'extrémité libre dans la cupule jeune. Cet accroissement prédominant d'un organe foliaire au cours de sa différenciation a été décrit maintes fois, notamment par M. C. de Candolle (1). Au fur et à mesure que la cupule se développe, il devient difficile de saisir la cause de ce dédoublement par suite de la soudure de la bractée *b*, mais le dédoublement de ce faisceau persiste toujours et va en s'accentuant.

Quant aux faisceaux f_2 et f_3, ils cheminent presque parallèlement sans une très grande obliquité dans leur course, ce qui explique pourquoi une section transversale de la cupule laisse voir leurs vaisseaux non obliques. Les extrémités libres des bractées *b* se voient nettement dans la cupule jeune et les terminaisons des faisceaux s'y remarquent aisément.

Toutes les émergences de la cupule sont vascularisées par les faisceaux les plus externes de cette cupule. De cette disposition particulière des faisceaux libéroligneux, on doit donc forcément arriver à la conclusion suivante : la cupule est formée par la soudure des bractées *b* et des bractéoles *st.*, soudure qui se produit bord à bord et de telle manière que la face interne de chaque bractée soit soudée à la face externe de celle qui lui est superposée ou alterne. Les quatre bractées *b* et les huit bractéoles ou stipules *st.* constituent donc la cupule.

Dans le diagramme qu'il donne de la fleur femelle du *Fagus silvatica*, Eichler (2) considère bien la cupule comme formée par les bractées *b*, mais il donne aux stipules une indépendance qu'elles n'ont pas, et encore ne représente-t-il que la moitié des stipules existant. Le diagramme de cette fleur doit donc être modifié de la façon suivante (fig. 15, II).

La cupule du *Castanea vulgaris* ne diffère pas de celle de

(1) C. de Candolle, *Sur les bractées florifères* (Bulletin de l'Herbier Boissier, VI, nº 3, p. 124-125).

(2) Eichler, *Blüthendiagramme*, t. II, p. 24, 1878.

Digitized by Google

Fagus silvatica ; le diagramme en diffère par les bractées primaires B, qui sont représentées bien que n'entrant pas dans la constitution de la cupule (fig. 15, I).

Quant à la cupule du *Quercus Robur*, elle diffère de celles

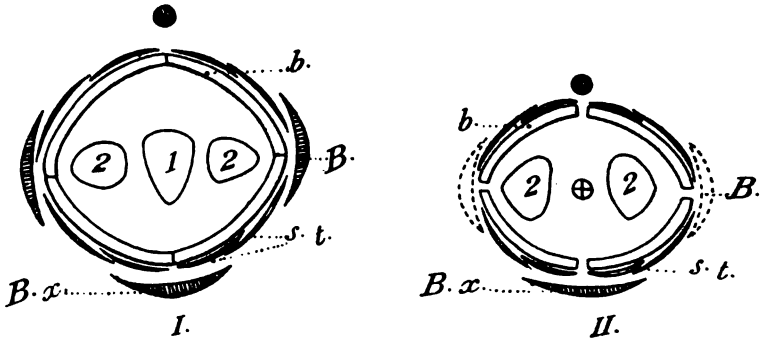


Fig. 15. — I. Diagramme de la fleur femelle du *Castanea vulgaris*. — *Bx*, bractée axillante; *B*, bractée de la fleur F_1 (voy. fig. 13); *bb*, bractées des fleurs F_2 et F_3 soudées bord à bord pour former la cupule; *st* et *st*, stipules des bractées *b* soudées à celles-ci et soudées entre elles. — II. Diagramme de la cupule de *Fagus silvatica*. Mêmes lettres, mêmes désignations.

étudiées précédemment en ce que les bractées *b* s'unissent seules l'une à l'autre sans soudure des bractéoles *st*.

L'opinion qui doit prévaloir est donc celle qui donne à la cupule même une origine foliaire, la partie inférieure et élargie de cet organe étant seule d'origine pédonculaire.

CHAPITRE II

L'ÉTAMINE

Développement et structure de l'anthère.

Chez les *Corylées*, les étamines sont insérées sous les écailles alternes et imbriquées du chaton.

Chaque écaille recouvre deux autres écailles latérales, et sur la ligne d'union de ces appendices foliaires, s'insèrent les filets staminaux bifurqués en Y, dont chaque branche porte une anthère biloculaire. En pratiquant des coupes longitudinales dans des chatons jeunes de *Corylus Avellana*, M. C. de Candolle (1) constata que les organes floraux résultent d'un déve-

(1) C. de Candolle, *Sur les bractées florifères*, *loc. cit.*, p. 123.

Digitized by Google

loppement secondaire de la bractée dont la base devient le siège d'une nouvelle formation de méristème actif du côté de sa face supérieure.

La disposition des étamines par rapport aux bractées varie suivant les genres ; chez les *Fagées*, elles sont groupés en épis à l'aisselle de bractées et alternes (*Quercus*), réunies au fond d'une coupe foliaire et lobée (*Fagus*) ou bien disposées en chatons allongés et grêles à l'aisselle des bractées (*Castanea*).

Développement de l'anthère. — Si l'on pratique des coupes dans une étamine très jeune du *Castanea vulgaris* ou *Corylus Avellana*, on voit se produire de bonne heure une différenciation des cellules appartenant à la zone sous-épidermique de l'anthère.

Immédiatement au-dessous d'une série de cellules disposées régulièrement et constituant l'épiderme, on remarque une autre assise cellulaire en voie de division avec cloisonnement, d'abord en direction tangentielle ; on a alors une file de cellules présentant des noyaux très nets et beaucoup plus gros que ceux de la zone épidermique ; des cloisonnements radiaux et horizontaux s'établissent bientôt dans cette zone primitive ; en définitive, il reste quatre assises sous-épidermiques et au centre de la future loge de l'anthère apparaissent les cellules mères des grains de pollen.

Ces cellules présentent un contenu protoplasmique abondant et de gros noyaux à plusieurs nucléoles ; leurs dimensions, leurs noyaux très gros et leurs nucléoles les distinguent immédiatement des cellules voisines. Tout autour des cellules mères, se trouve l'assise nourricière dont les cellules contiennent chacune deux noyaux plus petits ; le protoplasma apparaît granuleux et les cellules sont bourrées d'amidon.

La division en quatre de la partie centrale de la loge est bientôt suivie d'une segmentation des noyaux dans toutes les directions. La division continuant à se produire, on arrive au stade de formation des grains de pollen qui s'établit par le processus commun aux Dicotylédones en général.

L'assise nourricière et celle qui lui est immédiatement contiguë du côté de l'épiderme, se résorbent au fur et à mesure de l'accroissement de l'anthère ; à un stade du développement

Digitized by Google

plus avancé encore, on note la réduction presque complète de ces deux assises sous-épidermiques ; leurs membranes s'étirent et il ne reste bientôt plus au moment de la formation du pollen que des filaments cellulosiques ne se reliant plus que faiblement l'un à l'autre et contenant encore, entre les mailles du tissu très lâche qu'ils emprisonnent, de faibles granulations colorées en bleu par l'eau iodée. Cette réduction des assises sous-épiderdermiques se fait plus ou moins rapidement suivant les espèces. Chez le *Quercus*, ces deux assises restent visibles presque jusqu'à la maturité de l'anthère sans présenter de déformation appréciable.

La formation des grains de pollen a lieu suivant le mode habituel, par séparation des cellules mères suivie d'une division en quatre dans chaque cellule.

Structure et déhiscence de l'anthère.

Nous allons étudier la structure de l'anthère à partir du moment où disparaît l'assise nourricière jusqu'à la maturité, puis nous verrons comment s'effectue sa déhiscence (1).

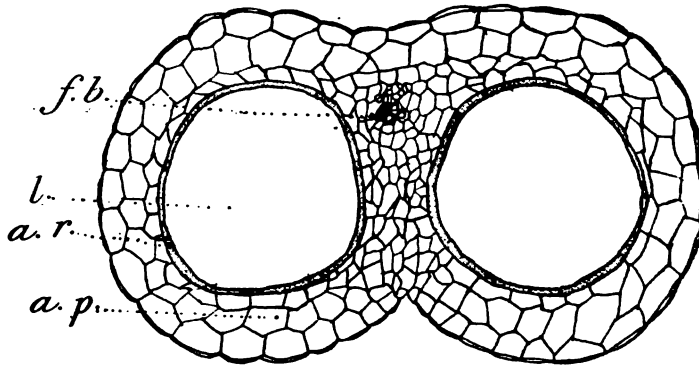


Fig. 16. — Anthère de *Corylus Avellana*. — Coupe transversale d'une anthère non mûre : *e*, épiderme; *ap*, assises sous-épidermiques; *ar*, cellules de l'assise nourricière réduites à un cordon granuleux ; *l*, loge ; *f*, faisceau libéroligneux.

Corylus Avellana. — L'anthère jeune de *Corylus* (fig. 16) présente deux loges séparées par un parenchyme cellulosique à

(1) L. Pauchet, *Sur la déhiscence de quelques anthères* (C. R. de l'Acad. des sc., juin 1907).

Digitized by Google

parois minces et plissées. Le faisceau du connectif comprend trois à cinq vaisseaux de bois annelés et spiralés qui sont la continuation directe des vaisseaux du filet. Un liber plus abondant accompagne ce bois et se différencie de bonne heure.

L'épiderme de l'anthère est formé de cellules assez régulières qui, d'abord cellulosiques, lignifient leurs parois, et dont le contenu cellulaire se désorganise et subit une transformation en prenant des épaississements affectant différentes formes. Cette lignification de l'épiderme est interrompue au voisinage de la ligne de déhiscence où il se continue à cet endroit par quelques cellules à parois minces. Les étamines de *Corylus* se développant pendant l'hiver, on comprend la raison d'être de cette lignification précoce de l'anthère. Les tissus sous-jacents, et en particulier les grains de pollen, sont protégés ainsi contre les grands froids. L'assise nourricière et les deux assises qui lui sont superposées disparaissent peu à peu ; seule, l'assise immédiatement sous-épidermique persiste, c'est elle qui, ainsi qu'on va le voir, constitue l'assise à déhiscence. Une coupe transversale pratiquée dans une anthère de Noisetier, peu avant la maturité, montre un épiderme dont les parois cellulaires sont presque entièrement lignifiées. Seule la partie périphérique de l'épiderme reste non lignifiée, cette zone enveloppante correspondant à la cuticule épidermique a tous les caractères de la membrane cellulosique, les réactifs de la cellulose agissant sur elle de la même façon et elle doit être considérée comme formée de cellulose. Quant à l'assise sous épidermique, elle présente dans chacune de ses cellules des bandelettes de cellulose épaissie affectant la forme de bâtonnets et disposées radialement (fig. 17). C'est là un caractère important des Cupulifères ; partout, chez toutes les espèces étudiées, les bandes de cellulose se retrouveront identiquement placées et identiquement constituées.

Ces bandes cellulosiques se présentent aussi dans les cellules sous-épidermiques sur les faces verticales et latérales ; mais elles sont disposées perpendiculairement aux parois et tangentiellement. A leur point de jonction avec la paroi, ces bâtonnets se renflent et leur base élargie se trouve en continuité avec la paroi cellulaire.

Digitized by Google

Les grains de pollen sont libres maintenant dans la cavité unique de l'anthère, les deux loges communiquent par suite de

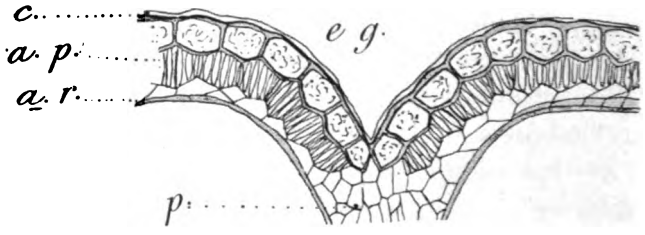


Fig. 17. — Coupe transversale de l'anthère de *Corylus Avellana* au voisinage de la ligne de déhiscence : *c*, cordon cellulosique entourant l'épiderme; *p*, parenchyme interloculaire.

la résorption de la partie intermédiaire composée de cellules plissées et peu résistantes qui disparaissent définitivement au moment de la maturité (fig. 18).

Comment l'anthère va-t-elle s'ouvrir pour laisser échapper le pollen? M. Leclerc du Sablon (1) a montré qu'il y a toujours une relation étroite entre l'ouverture de l'anthère et sa structure, et que, d'autre part, les causes de cette déhiscence sont purement physiques. Desséchement des parois de l'assise mécanique sous l'influence de la sécheresse de l'air; contraction plus ou moins grande des parois cellulosiques ou lignifiées, et rupture des valves avec fléchissement des bords, soit à l'intérieur soit à l'extérieur : telles sont les phases de l'ouverture d'une anthère, en général.

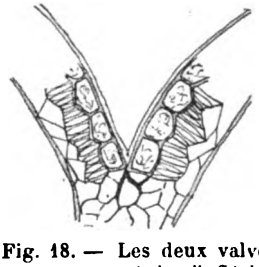


Fig. 18. — Les deux valves commencent à s'infléchir en dedans.

Ici les épaississements lignifiés des parois se trouvent à la partie externe de l'assise sous-épidermique.

Considérons deux des cellules dans cette assise sous-épidermique et prenons-les au voisinage de la ligne de déhiscence, de part et d'autre de cette ligne. Sous l'influence de la sécheresse de l'air, la partie externe va se contracter moins que les parois latérales et internes, moins surtout que les bandes cellulosiques,

(1) Leclerc du Sablon, *Recherches sur la structure et la déhiscence des anthères* (Ann. des Sc. nat., 7e série, 1885, p. 97 à 134).

Digitized by Google

car la cellulose pure se contracte plus que la cellulose lignifiée et moins que la cellulose épaissie. La traction résultant de ce raccourcissement inégal, se produisant partout et particulièrement au voisinage des deux valves, il va en résulter un raccourcissement de l'assise dans le sens indiqué (Voy. fig. 18). Ce raccourcissement se produira dans les trois sens, puisque les bandes cellulosiques existent partout, comme on l'a vu, et dans une direction tangentielle. Il y aura deux temps dans l'ouverture : d'abord un décollement de la partie primitivement en contact ; ensuite une séparation définitive, en même temps que le bord libre des valves s'infléchira en dedans, par suite de cette inégalité de raccourcissement constatée plus haut entre la partie externe et la partie interne des cellules dans l'assise sous-épidermique. On passera, de la position indiquée par la figure 17, à celle indiquée pas la figure 18, les parois des cellules de cette assise sous-épidermique se contractant, elles aussi, dans les

Fig. 19. — Les deux valves *a* et *b* relèvent leurs extrémités ; *c*, cordon cellulosique.

deux sens. Les bords resteraient complètement infléchis et la déhiscence serait introrse, si la partie périphérique de l'épiderme n'influençait pas cette ouverture ; en réalité, une fois les bords libres, il y a relèvement de ces bords, par suite de la contraction de cette cuticule ; malgré tout, la flexion des loges vers le tiers de leur longueur indique encore que la déhiscence est bien introrse (fig. 19).

Castanea vulgaris.

L'anthère du Châtaignier doit être rapprochée de celle du Noisetier, comme structure et comme déhiscence. Elle présente quatre loges comme celle de toutes les Fagées. L'épiderme est formé par des cellules régulières, allongées tangentiellement et dont les parois sont imprégnées de lignine. Cette lignification des parois de l'anthère est bien moins prononcée

Digitized by Google

que chez le Noisetier, mais elle peut être mise facilement en évidence au moyen des réactifs de la lignine. Cette lignification

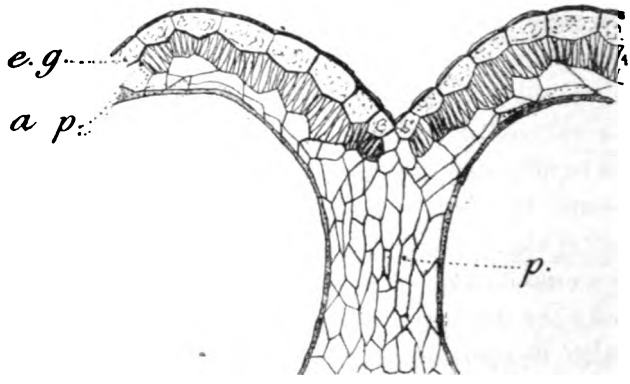


Fig. 20. — Anthère de *Castanea vulgaris* : Coupe transversale au niveau de la ligne de déhiscence; *eg*, épiderme lignifié ; *ap*, assise sous-épidermique ; *p*, parenchyme interloculaire.

incomplète de l'épiderme trouve son explication dans ce fait que le développement de l'étamine du *Castanea* a lieu en juillet-août pendant la saison la plus chaude de l'année. Elle a pour but de protéger l'anthère contre la trop grande sécheresse résultant d'une transpiration abondante. Immédiatement au-dessous de l'épiderme se trouve l'assise mécanique, avec les caractères indiqués précédemment pour le *Corylus Avellana*. Les bandes cellulosiques sont ici, comme chez le Noisetier, plus nombreuses sur les faces supérieure et inférieure. Leur disposition radiale sur ces deux faces est très nette et leur épaississement très marqué.

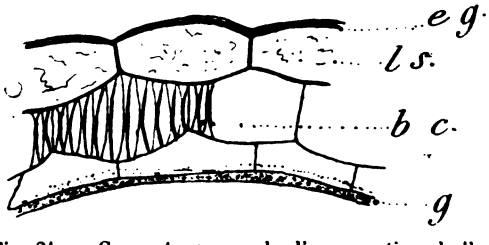


Fig. 21. — Coupe transversale d'une portion de l'anthère à un plus fort grossissement : *eg*, épiderme lignifié ; *ls*, épaississements lignifiés du contenu cellulaire épidermique ; *bc*, bandelettes cellulosiques de l'assise sous-épidermique.

Les assises nourricière et transitoire ont presque disparu à la maturité ; le parenchyme interloculaire disparaît, de sorte que les loges communiquent deux à deux.

Déhiscence. — Considérons, comme nous l'avons fait pour le

Digitized by Google

Noisetier, quelques-unes des cellules de l'assise sous-épidermique (fig. 20 et 21). La constitution des parois cellulaires étant la même (à part la lignification moins prononcée des cellules sur la partie externe), l'influence de la sécheresse de l'air déterminera une contraction *sur place* de ces cellules avec un léger retrait dans le sens tangentiel.

Il en résultera, comme pour le

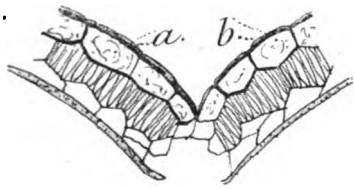


Fig. 22. — Commencement de déhiscence. Les cellules du parenchyme interloculaire disparaissent.

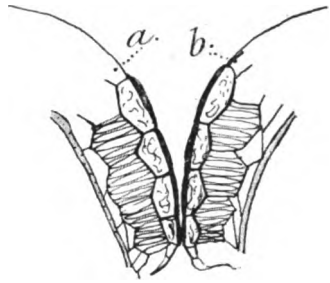


Fig. 23. — Déhiscence introrse. Les deux valves s'incurvent en dedans.

Corylus, un écartement des valves, une rupture et une flexion vers l'intérieur des loges. Il y aura une déhiscence légèrement introrse (fig. 22 et 23), et, comme l'épiderme ne présente point de bande externe cellulosique le recouvrant complètement, les valves resteront légèrement fléchies vers les loges. On voit déjà que, à une modification des propriétés des parois cellulaires, correspond une modification dans l'ouverture de l'anthère.

Fagus silvatica.

En étudiant l'anthère du *Fagus silvatica* et sa déhiscence, on étudiera, par là même, celle du *Carpinus Betulus* et du *Quercus Robur*, aucune différence n'existant entre ces trois espèces. On peut faire à ce propos la même remarque qui a déjà été faite à propos du *Quercus* : l'assise nourricière et les assises transitoires restent visibles pendant un certain temps pour ne disparaître définitivement qu'à la maturité. L'anthère présente qua tr sacs polliniques; il nous suffira de considérer les deux loges voisines pour nous rendre compte de la structure et de la déhiscence de l'anthère. La paroi des sacs polliniques comprend un épiderme, une assise sous-épidermique et le reste des assises préexistantes.

Digitized by Google

Dans le *Fagus* et dans le *Carpinus*, cette zone interne est représentée seulement par un cordon granuleux rattaché à la précédente assise par quelques filaments cellulosiques, les uns intacts,

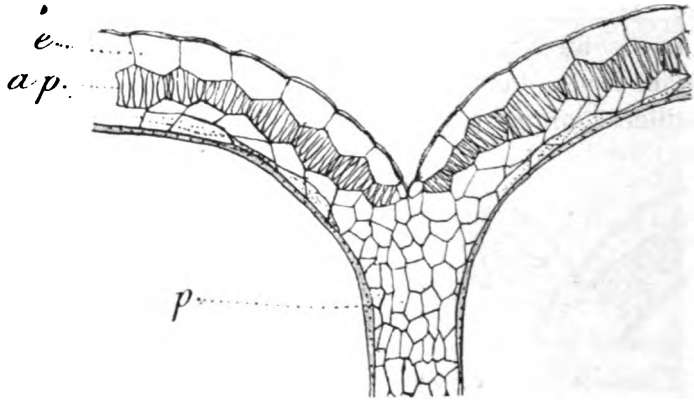


Fig. 24. — Anthère de *Carpinus Betulus* : Coupe au voisinage de la ligne de déhiscence : *e*, épiderme cellulosique ; *ap*, assise sous-épidermique avec bâtonnets cellulosiques.

les autres plissés et dirigés plus ou moins obliquement. L'épiderme est formé de cellules allongées tangentiellement et dont les parois entièrement cellulosiques ne présentent aucun épaississement lignifié.

L'assise sous-épidermique, seule intéressante au point de vue

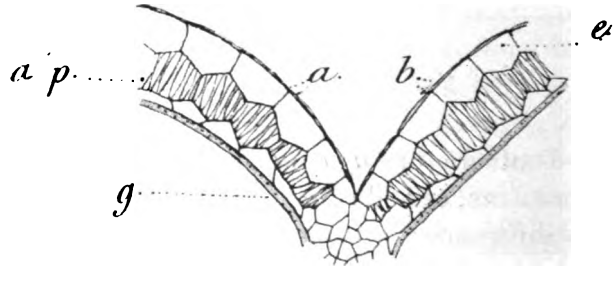


Fig. 25. — Même coupe dans la même région avant la déhiscence.

de sa constitution spéciale, présente les caractères de celles étudiées précédemment, sauf en ce qui concerne la lignification de la partie confinant à l'épiderme (fig. 24 et 25).

Déhiscence. — Considérons les cellules qui se trouvent situées de chaque côté de la ligne de déhiscence et qui appartiennent

Digitized by Google

à deux loges voisines. Elles présentent, comme toutes celles de l'assise sous-épidermique d'ailleurs, des bâtonnets de cellulose épaissie, disposés perpendiculairement à leur paroi et dans le sens radial, mais les deux dernières cellules sous-épidermiques, appartenant d'une part à la loge de gauche, d'autre part à celle de droite, ne sont pas contiguës. Elles sont séparées par des cellules allongées radialement à parois plissées, qui s'intercalent entre les cellules épidermiques et qui n'ont point disparu au moment de la résorption du parenchyme interloculaire.

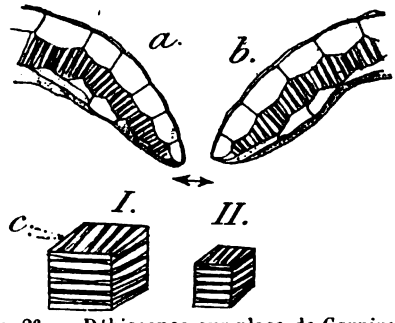


Fig. 26. — Déhiscence sur place de *Carpinus Betulus*. — Les valves *a* et *b* s'écartent l'une de l'autre. — I. Une cellule de l'assise sous-épidermique avant la contraction — II. Après : *c*, face supérieure cellulosique.

C'est par l'action de l'assise mécanique sous-épidermique que cette partie va disparaître, séparant ainsi complètement les deux bords de l'anthère. Par suite de la contraction des bâtonnets cellulosiques à l'intérieur des cellules, les parois opposées vont se rapprocher les unes des autres, et il y aura une contraction de l'assise sous-épidermique sur toute la longueur de l'anthère, dans les trois sens : radial, tangentiel et latéral (fig. 26, I). Au niveau de la ligne de déhiscence, on remarque une concavité accentuée. Si l'on examine l'effet de la contraction des cellules particulièrement à cet endroit, on remarque que les tensions résultant de la contraction dans le sens radial seulement sont dirigées obliquement et inversement l'une de l'autre ; il résulte de ceci que les parois des cellules intercalaires seront séparées l'une de l'autre et dirigées, celles du côté droit vers la droite et les autres vers la gauche. Cette disposition caractéristique est réalisée sur la coupe transversale de *Carpinus Betulus* (fig. 25). Si l'on tient compte également des contractions dans le sens tangentiel, on voit que le résultat définitif sera le décollement complet de ces cellules intervalvaires, les valves se sépareront simplement sans inflexion en dedans,

Digitized by Google

sans recourbement à l'extérieur, leurs extrémités restant simplement en place (fig. 26), et rien n'indiquera le moindre changement dans les courbures des valves : c'est la déhiscence sur place, caractéristique des trois espèces citées.

Conclusions. — Pour résumer les quelques résultats exposés dans ce chapitre, on arrive aux conclusions suivantes :

Le développement de l'anthère se poursuit d'une façon identique chez les différentes Cupulifères,

L'anthère mûre présente une assise sous-épidermique à bandelettes de cellulose épaissie se retrouvant chez toutes les espèces avec les mêmes caractères ; l'épiderme est lignifié totalement chez le *Corylus Avellana*, partiellement chez le *Castanea vulgaris*, il reste cellulosique chez les autres espèces.

De l'étude des parois cellulaires de l'assise sous-épidermique (éléments lignifiés imprégnés de lignine ou cellulosiques), on peut déduire le mode d'ouverture des anthères, confirmé par l'examen des coupes.

Déhiscence introrse avec relèvement du bord des valves : *Corylus Avellana.*

Déhiscence légèrement introrse : *Castanea vulgaris.*

Déhiscence sur place : *Fagus silvatica*, *Quercus Robur*, *Carpinus Betulus.*

Ainsi qu'on l'a vu dans le cours de cet exposé, la déhiscence des anthères est en relation directe avec la structure de leurs parois (1).

CHAPITRE III

ANATOMIE COMPARÉE DES STYLES

Les styles des *Corylées*, au nombre de deux, sont réunis seulement par leur base dans le pistil jeune, soudés jusqu'à une hauteur variable dans le pistil plus âgé.

Les *Fagées* présentent plusieurs styles, au nombre de trois chez le Chêne et le Hêtre, de six à neuf chez le Châtaignier.

La soudure des styles a lieu à différents niveaux selon les

(1) Leclerc du Sablon, *loc. cit.*

Digitized by Google

espèces; le style composé unique qui en résulte est plus ou moins recouvert de poils, ceux-ci parfois très développés.

L'étude anatomique des styles du *Fagus silvatica* et du *Castanea vulgaris* a été faite par M. Guéguen (1).

Tognini (2) a étudié également cette dernière espèce, surtout au point de vue des canaux stylaires.

On verra ici quelles différences existent entre les *Corylées* et les *Fagées*, tant au point de vue de l'anatomie de l'organe qu'au point de vue de l'appareil conducteur du tube pollinique.

Corylées. — Le style du *Corylus Avellana*, examiné en coupe transversale (fig. 27), présente un épiderme formé de cellules très allongées dans le sens radial, dont les parois sont sinueuses et parfois fortement plissées.

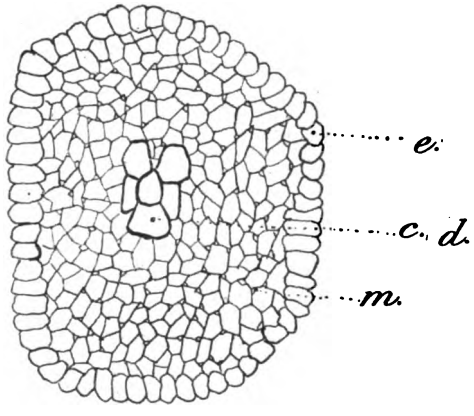


Fig. 27. — Style de *Corylus Avellana*: *e*, épiderme: *cd*, cellules conductrices; *m*, méats.

Les assises sous-épidermiques sont collenchymateuses; au-dessous d'elles se trouvent des cellules polyédriques à méats nombreux; enfin, au centre de la coupe, on remarque quelques cellules à dimensions beaucoup plus grandes, à parois légèrement épaissies et qui, en se résorbant plus tard, livreront passage au tube pollinique. Il n'existe aucune différenciation de l'appareil vasculaire.

Le style du *Carpinus Betulus* présente beaucoup d'analogie avec celui du *Corylus*. Les cellules du centre sont plus nombreuses (fig. 28), de cinq à six, irrégulières et épaissies. On n'y trouve également aucune trace de l'appareil vasculaire. En se résorbant, les cellules du centre (fig. 31), forment un canal

(1) Guéguen, *Anatomie comparée du tissu conducteur du style et du stigmate des Phanérogames* (Ann. Sc. nat. Bot., 1887).

(2) Tognini, *Ricerche di morphologia ed anatomia sul fiore feminile e sul frutto del Castagno* (Atti del R. Inst. dell' Univ. di Pavia, 1892).

Digitized by Google

conducteur à parois irrégulières, dans lequel chemineront les tubes polliniques pour arriver jusqu'à l'ovaire.

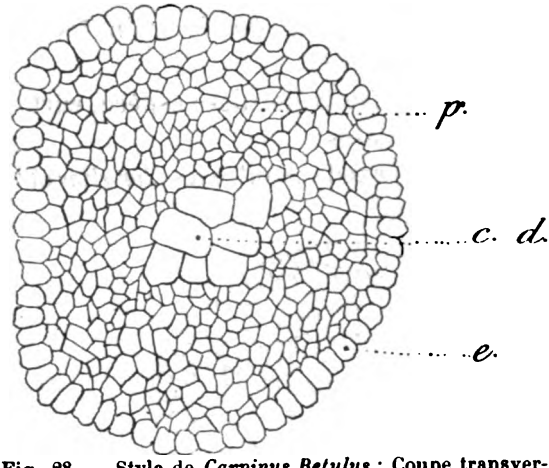


Fig. 28. — Style de *Carpinus Betulus* : Coupe transversale du style : *e*, épiderme; *p*, parenchyme cellulosique; *cd*, cellules conductrices.

Vu en coupe longitudinale (fig. 30), cet appareil conducteur se présente sous forme de cellules allongées avec, çà et là, sur les bords, quelques

Fig. 29. — Papilles stigmatiques avec cire *c*.

productions d'origine cireuse que l'orcanette acétique met nettement en évidence. Cette cire retient le tube pollinique et le maintient dans le canal le long duquel il doit cheminer.

Fig. 30. — Cellules conductrices de *Carpinus* en coupe longitudinale.

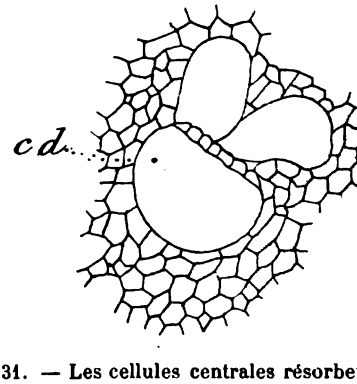


Fig. 31. — Les cellules centrales résorbent leurs parois.

Les papilles stigmatiques du Charme (fig. 29) recouvrent le style en forme de coiffe; ces papilles sont en massue, ovoïdes au sommet, rétrécies à la base; elles contiennent une notable quantité de matière cireuse destinée à retenir le pollen. Il est à remarquer que l'épiderme contient lui aussi une quantité notable de

Digitized by Google

cire. Les grains de pollen germent facilement dans ses cellules, les uns pénétrant jusqu'à l'ovaire par le canal central, les autres cheminant dans l'assise sous-épidermique du style et arrivant finalement jusqu'aux ovules par pénétration intercellulaire (1). Le canal central étant toujours l'appareil conducteur principal du tube pollinique mettant en communication le sommet du style avec l'ovaire.

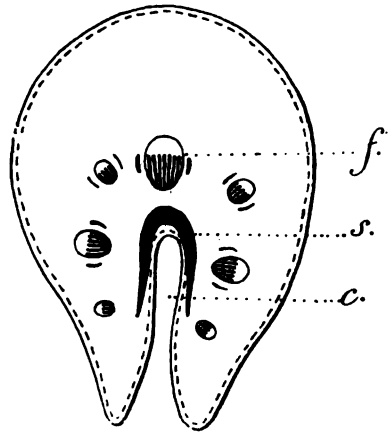


Fig. 32. — Style de *Fagus silvatica*. — Schéma. — Coupe transversale.

Fagées. — Le style central du *Fagus silvatica* (fig. 33) résulte de la soudure des trois branches stylaires, correspondant chacune à un carpelle. Il est garni de poils nombreux; l'épiderme, contrairement à celui des *Corylées*, est formé de cellules étroites, la cuticule y est plus apparente. Le parenchyme avoisinant l'épiderme est formé de collenchyme surtout dans la région sous-épidermique, puis viennent d'autres cellules présentant quelques méats.

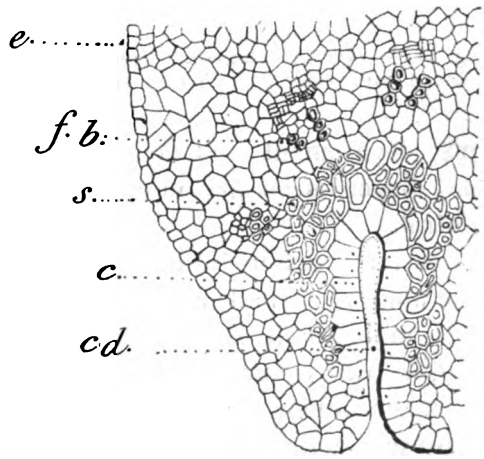


Fig. 33. — Coupe transversale d'une portion du style central de *Fagus silvatica*. Mêmes lettres, mêmes désignations : *fb*, faisceau libéroligneux; *cd*, canal conducteur.

Les faisceaux libéroligneux sont disposés par groupes de cinq autour d'une gouttière située à la partie supérieure de la feuille modifiée. Les faisceaux ne sont pas également développés; les uns restent petits, les autres, ceux situés

(1) Navaschine a observé un fait analogue chez le Bouleau (Voy. *Index bibliographique*).

Digitized by Google

en face de la gouttière, sont plus développés; chacun d'eux comprend quelques vaisseaux annelés et spiralés en files radiales, avec du liber superposé, mais non enveloppant. Ces faisceaux sont entourés, çà et là, de quelques cellules non encore complètement différenciées en sclérenchyme (fig. 32).

Quant à la gouttière conductrice, elle est limitée par des cellules allongées radialement sur tout le pourtour de l'invagination foliaire; elle est entourée par un arc de sclérenchyme. Les masses cireuses déjà observées chez les Corylées se retrouvent ici tout le long de l'épiderme de la gouttière (1).

Castanea vulgaris. — Les branches stylaires du *Castanea vulgaris*, appelées ici branches stigmatiques, diffèrent d celles de *Fagus* par leur section plutôt elliptique et déformée (fig. 34). Au centre de ces branches stigmatiques, se trouve un parenchyme formé de petites cellules polyédriques à parois légèrement collenchymateuses. Des cellules sclérifiées sont disposées en arc ou en anneau autour de ce parenchyme central.

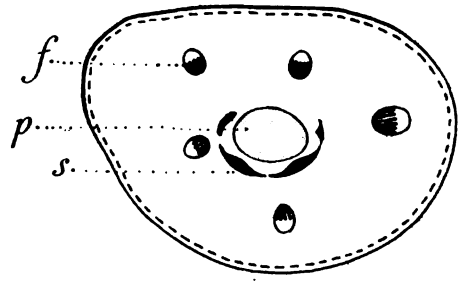


Fig. 34. — Style de *Castanea vulgaris*. Schéma. Coupe transversale d'une branche stigmatique.

Les faisceaux libéroligneux sont répartis en demi-cercle et leur nombre varie de cinq à six dans chaque branche.

Si maintenant l'on étudie le style unique résultant de la soudure des branches stigmatiques, on remarque que chaque branche, tout en conservant sa structure anatomique à peu près identique, comprend des faisceaux libéroligneux disposés suivant deux demi-cercles et en nombre variable de cinq à sept, les uns médians, plus développés que les autres latéraux. En allant du sommet des styles vers la base, les faisceaux médians se sont rapprochés du côté externe et les autres ont continué leur course à la même hauteur dans le style.

(1) Guéguen, *loc. cit.*

Digitized by Google

De plus, on voit que le parenchyme central à petites cellules polyédriques, est mis en relation avec les fentes étoilées du style central par un canal très étroit, parfois à peine indiqué, souvent fermé (fig. 35 et 36). Il est certain que, ni ce parenchyme central, ni ce canal incomplet du style ne sont conducteurs. En pratiquant des coupes dans des styles de plus en plus âgés, on n'assiste pas à la résorption des cellules centrales ; celles-ci se conservent intactes pendant la maturité de l'ovaire ; quant au canal, toujours très étroit et souvent à peine indiqué, il conserve à peu près sa direction en se rapprochant de l'ovaire et se termine avant d'y arriver : c'est bien plutôt

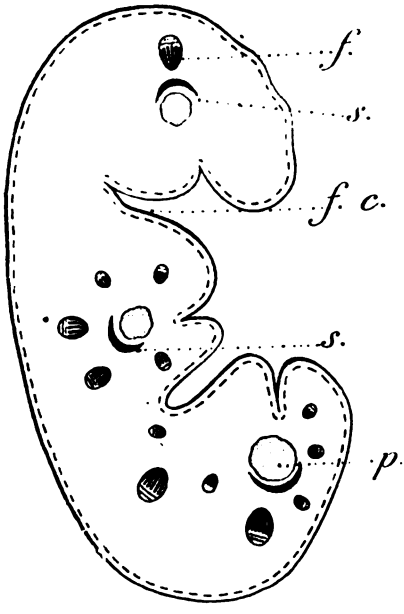


Fig. 35. — Les trois branches stigmatiques sont réunies pour former la moitié du style : *p*. parenchyme central ; *f*, faisceau libéroligneux ; *fc*, fente conductrice ; *s*, sclérenchyme.

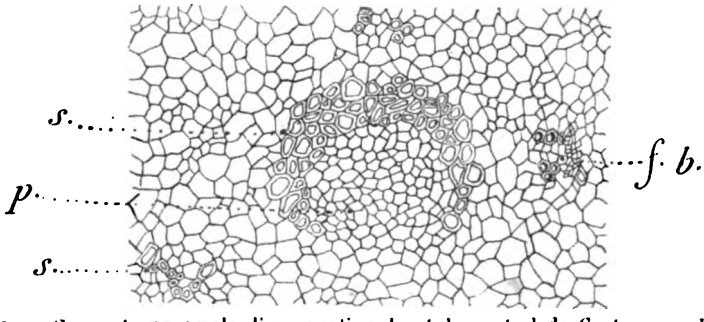


Fig. 36. — Coupe transversale d'une portion du style central de *Castanea vulgaris*. Mêmes lettres, mêmes désignations.

une fissure incomplète, résultant d'un écartement de chaque branche soudée, qu'un canal à proprement parler ; il est à remarquer d'ailleurs que cette fissure n'existe pas partout.

Il n'en est pas de même de la fente étoilée qui sépare les diffé-

Digitized by Google

rentes branches stigmatiques incomplètement soudées ; les cellules qui tapissent les parois de cette fente ont leurs parois garnies de cire et les grains de pollen en voie de germination s'y rencontrent en abondance. M. Guéguen (1) n'est pas d'accord avec M. Tognini sur la conductibilité de cette fente. « Il n'est pas certain, dit-il, que cette fissure soit seule conductrice comme le veut Tognini ou même qu'elle soit conductrice. » Les observations précédentes montrent que cette fissure peut être conductrice. Il est vrai que cette fente n'est pas en communication directe avec la cavité ovarienne, mais il est certain aussi que le court intervalle qui l'en sépare n'est pas un empêchement à la pénétration du tube pollinique jusqu'à l'ovaire, les cellules qui se trouvent dans cette région se résorbant souvent à la maturité de l'ovaire. Il faut remarquer en effet que le tube pollinique ne suit pas toujours un chemin absolument tracé dans le style en parcourant un canal toujours ouvert ; les observations faites par plusieurs auteurs, notamment par Navaschine (2), dans les cas de chalazogamie, montrent qu'il en est souvent autrement, en particulier chez les Bétulinées.

Quant aux « styles supplémentaires » que M. Tognini décrit comme ayant un cercle de faisceaux libéroligneux au centre qui n'existe pas dans les styles normaux, il semble, comme le fait remarquer M. Guéguen, que cet auteur s'est trompé dans ses observations. Jamais il ne m'a été donné de faire pareille remarque.

On peut dire que le tube pollinique ne se développe pas dans le tissu central des branches stigmatiques du *Castanea*, mais qu'il se développe entre ces organes, puis au centre du style unique, pour arriver finalement jusqu'à la cavité ovarienne.

Il n'y a donc pas analogie complète entre les appareils conducteurs du *Fagus* et ceux du *Castanea*.

Quercus Robur. — Le style du *Quercus* ne diffère pas sensiblement de celui du *Fagus* ; la section est elliptique et irrégulière. La seule différence est dans la lignification de l'épiderme ; de bonne heure, les petites cellules épidermiques s'imprègnent de lignine et le style unique très court, résultant de la soudure des

(1) Guéguen, *op.* déjà cité, p. 62.
(2) Navaschine, Voy. *Index bibliographique*.

Digitized by Google

trois branches stylaires, est lignifié sur toute sa longueur. On retrouve autour de la fente conductrice, identique à celle du *Fagus*, l'arc de sclérenchyme déjà constaté sur cette espèce ; autour des faisceaux libéroligneux, se remarquent également des cellules sclérifiées qui se différencient de bonne heure. Chaque branche stylaire est recouverte de papilles stigmatiques larges et aplaties. Les fentes conductrices de chacune de ces branches se poursuivent tout le long du style unique résultant de leur soudure incomplète (fig. 37 et 38). L'appareil conducteur comprend donc trois canaux correspondant à chaque branche stylaire et ne diffère pas de celui du *Fagus*.

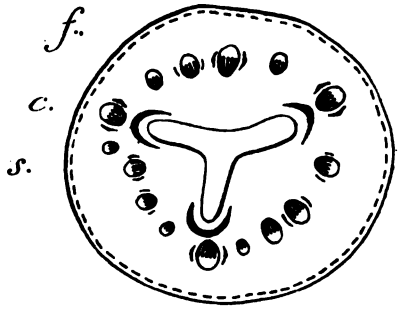


Fig. 37. — Style de *Quercus Robur*. — Coupe transversale schématique du style central.

Conclusions. — L'étude comparée des styles de *Corylées* et de *Fagées* nous conduit aux conclusions suivantes. Les styles des Corylées diffèrent de ceux des Fagées par leur épiderme à cellules allongées radialement, par un appareil conducteur central résultant de la résorption des cellules situées exclusivement au centre du style, enfin par l'absence d'appareil vasculaire.

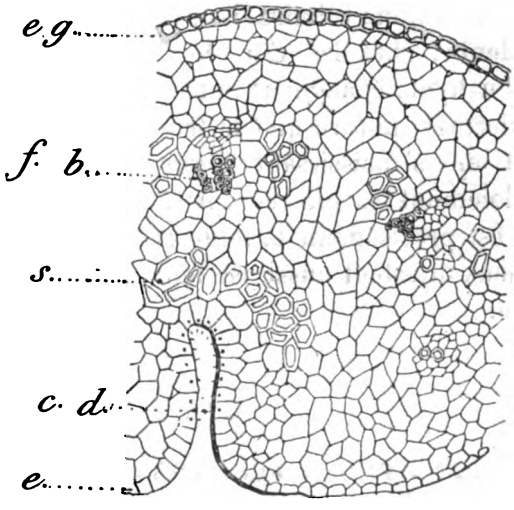


Fig. 38. — Coupe transversale d'une partie du style central de *Quercus Robur* : *eg*, épiderme lignifié; *fb*, faisceau libéroligneux; *f*, faisceau libéroligneux; *s*, sclérenchyme; *cd*, canal conducteur.

Le Noisetier et le Charme ont beaucoup de caractères

Digitized by Google

communs ; seules, les cellules du parenchyme central, plus nombreuses chez le Charme, permettent de distinguer les styles de ces deux espèces.

Chez les Fagées, l'analogie persiste entre le Hêtre et le Chêne. L'épiderme lignifié du style de cette espèce et le sclérenchyme vasculaire plus développé, permettent néanmoins de les différencier à cet égard.

Chez ces deux espèces, l'appareil conducteur est constitué par une fente allongée située à la face supérieure de la feuille modifiée. Le *Castanea vulgaris*, bien que ne différant pas sensiblement des espèces précédentes, quant à la structure du style, s'en distingue par un parenchyme central à petites cellules polyédriques non conducteur ; la fissure étoilée résultant de la soudure incomplète des branches stigmatiques étant seule conductrice.

En étudiant les styles de Cupulifères, il est impossible de douter de leur origine foliaire. La symétrie par rapport à un plan y est évidente ; chez les Corylées, la section semi-circulaire avec parenchyme également différencié de part et d'autre des deux épidermes montre que la feuille s'est incomplètement repliée tout en s'épaississant régulièrement ; chez les Fagées, le reploiement est plus complet, et il est suivi d'une invagination qui est précisément la fente conductrice ; les faisceaux libéroligneux attestent aussi par leur disposition l'origine foliaire du style.

CHAPITRE IV

LES OVULES. FÉCONDATION ET AVORTEMENT

Parmi les auteurs qui ont étudié l'embryologie des Cupulifères, il convient de citer tout d'abord Navaschine (1). Dans sa publication qui a trait au *Corylus Avellana*, il donne, de l'ovule de cette espèce, une description complète et suit en même temps son développement jusqu'après la fécondation. M. Benson (2)

(1) S. Navaschine, *Zur Entwickelungsgeschichte der Chalazogamen Corylus Avellana*, Saint-Pétersbourg, 1899.
(2) M. Benson, *loc. cit.*

Digitized by Google

a fait aussi sur quelques Cupulifères quelques études intéressantes.

Dans l'ovule arrivé à maturité, se trouvent plusieurs sacs embryonnaires présentant la constitution typique de ceux des Angiospermes. Jusqu'au moment de la fécondation, les deux ovules de cette espèce se développent normalement et parallèlement ; puis, une fois la fécondation opérée, l'un d'eux prend une avance considérable sur l'autre; celui-ci ne constitue bientôt plus qu'un rudiment d'ovule, qui se désorganise petit à petit. L'ovule A qui s'est ainsi développé, présente un embryon déjà visible au moment où il dépasse l'autre de quelques millimètres ; on assiste alors au début de la formation de l'embryon, et il est facile de suivre toutes les phases de la division cellulaire. D'où vient que cet ovule se développe normalement à l'exclusion de l'autre ? Sont-ils fécondés tous deux ou bien l'un d'eux, seul fécondé, détermine-t-il l'avortement de l'autre ?

Chez le *Corylus Avellana*, le tube pollinique n'arrive pas directement à l'ovule par le micropyle en suivant le chemin le plus court (porodie), il passe par le placenta et le funicule et pénètre dans le nucelle par la chalaze. C'est à ce mode de pénétration particulière qu'on a donné le nom de chalazodie (1).

Examinons la disposition des ovules sur le placenta ; nous verrons ensuite quelle est leur constitution anatomique. Le *Corylus Avellana* possède un ovaire à deux loges et en définitive un ovule par carpelle ; ces ovules sont anatropes, présentent un seul tégument et un micropyle fermé.

Considérons le point d'attache du funicule au placenta ; en général l'un des ovules A (fig. 39) présente un point d'insertion situé un peu plus haut que l'autre B, en remontant vers la base des styles.

Des coupes en série, pratiquées perpendiculairement à l'axe placentaire et aux ovules, montrent que l'ovule A présente son micropyle situé à un niveau un peu plus élevé que celui de l'ovule B, le hile vrai se trouvant également surélevé, de telle sorte que la région chalazienne est située juste en face du hile ; les coupes pratiquées axialement permettent de se rendre compte de cette particularité. Dans l'autre ovule, au contraire

(1) S. Navaschine, *loc. cit.*

Digitized by Google

(fig. 39, I et II), cette même région se trouve située un peu au-dessous du hile; de cette disposition il résulte, que le tube pollinique suivra de préférence le chemin le plus court, passant d'abord en *a*, et venant déboucher du funicule en *h*. En fait, c'est l'ovule A qui se développe après la fécondation et qui présente la division caractéristique de l'oosphère consécutive à la fécondation.

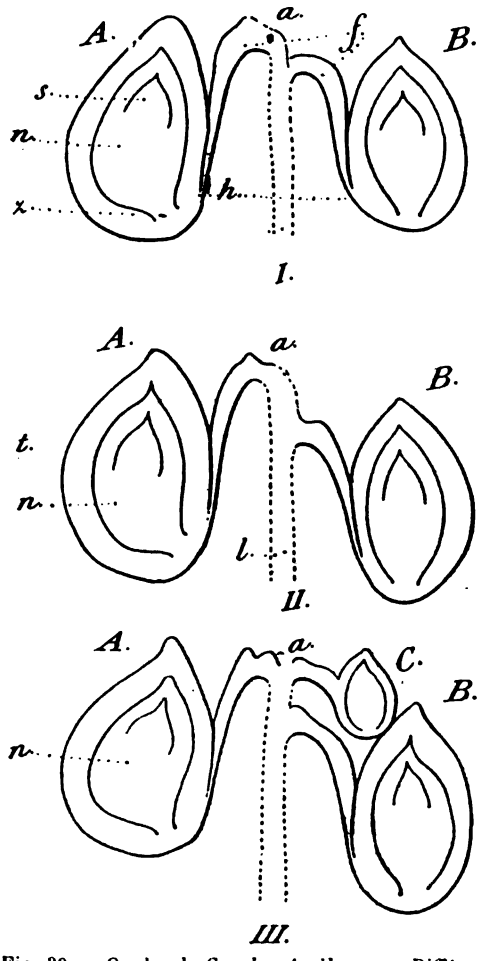


Fig. 39. — Ovules de *Corylus Avellana*. — Différentes positions de l'ovule par rapport au funicule et au placenta. — I. Cas général. — II. L'ovule *B* est situé sur le placenta bien au-dessous de l'ovule *A*. — III. Un ovule dans un carpelle, deux ovules dans l'autre; *A* et *B*, ovules; *a*, base des styles; *f*, funicule; *z*, chalaze; *t*, tégument; *h*, hile vrai; *s*, sacs embryonnaires; *l*, placenta; *n*, nucelle.

Lorsque les ovules paraissent insérés au même point (il n'y a jamais opposition complète entre les deux points d'insertion), la disposition du hile par rapport à la chalaze reste la même.

Un troisième cas peut se produire : c'est celui de deux ovules dans un carpelle et d'un ovule dans l'autre (de deux ovules quelquefois). Dans ce cas la figure (39, III) montre que l'ovule fécondé qui doit se développer est l'ovule A dont le point d'insertion est plus relevé sur le placenta : c'est ce qui se produit en effet.

Assez souvent, un des deux ovules présente, avant la fécon-

Digitized by Google

dation, un développement plus avancé que l'autre : c'est l'ovule A, qui offre ses sacs embryonnaires nettement différenciés peu de temps avant l'autre ; mais ce cas n'est pas général ; on verra que, chez les Fagées, il en est autrement.

On sait que, chez les *Corylus Avellana* et *Carpinus Betulus*, la pollinisation a lieu bien avant la maturité de l'ovaire ; on peut trouver en effet un ou plusieurs tubes polliniques dans le funicule avant que les ovules soient complètement différenciés ; on pourrait prétendre alors que la considération du tube pollinique arrivant le premier dans le sac embryonnaire pour féconder l'oosphère n'a plus sa raison d'être, étant donné le temps assez long qui sépare la pollinisation de la fécondation. Mais il faut considérer que le trajet du tube pollinique dans le nucelle est compliqué et dure fort longtemps ; d'autre part, il s'écoule un temps appréciable entre la fécondation de l'oosphère et la division du noyau de cette cellule (Navaschine). Ces considérations expliquent pourquoi le tube pollinique arrivant le premier dans le funicule et dans la chalaze peut ne féconder l'oosphère que plusieurs semaines plus tard (Treub).

Le deuxième ovule peut-il être fécondé ? Oui, car aucun empêchement n'existe à la fécondation. S'il subit un arrêt de développement, cela tient surtout à ce que la fécondation de l'ovule A détermine chez cet ovule, par suite d'un processus encore peu connu, une excitation qui fait que le premier ovule fécondé se développe physiologiquement aux dépens de l'autre,

On note parfois dans l'ovule B un commencement de division de l'oosphère, mais en général cette division ne se poursuit pas ; exceptionnellement néanmoins, l'ovule B peut s'accroître et poursuivre son développement parallèlement à l'ovule A ; c'est alors que la fécondation de cet ovule a suivi de près celle de l'ovule voisin.

Parmi les sacs embryonnaires, lequel est généralement fécondé ? Chez le *Corylus Avellana*, celui qui se trouve situé du côté du micropyle se développe le plus souvent ; quelquefois c'est, au contraire, le plus inférieur qui se développe après la fécondation.

Dans le Charme, qui présente une disposition des ovules analogue à celle du Noisetier, le sac embryonnaire le plus inférieur est souvent fécondé, et comme l'oosphère occupe de

Digitized by Google

par la situation même du sac une position excentrique par rapport à l'ovule, l'embryon qui en dérive n'est pas axial et le suspenseur s'insère sur le côté de la paroi nucellaire.

Fagées. — Les Fagées présentent un ovaire à plusieurs loges, au nombre de trois (*Fagus*, *Quercus*), de six (*Castanea*). Les ovules sont au nombre de deux par carpelle. Dans le *Castanea vulgaris*, de même que dans le *Fagus silvatica*, les ovules, au moment de la maturité de l'ovaire, peu avant la fécondation, ne présentent pas un développement identique; un ovule par loge est plus développé que l'ovule voisin ; cette différence est très nette si l'on fait quelques coupes en série, les unes transversales perpendiculairement au placenta, les autres longitudinales dans les ovules, pris deux à deux. En prenant comme type le *Fagus silvatica*, désignons les ovules les plus développés avec sacs embryonnaires bien nets par A, B, C, en réservant la dénomination *a*,*b*,*c* aux autres. On aura, pour une loge par exemple, *a*A, pour une autre *b*B, pour une troisième *c*C.

Les ovules, dans chaque loge, s'insèrent à peu près au même point sur le placenta, mais en ce qui concerne les ovules A, B, C, il y a une insertion légèrement différente, les divers points d'insertion sont disposés suivant une petite ligne spiralée. Nous revenons alors au cas du *Corylus* et du *Carpinus*, car un des ovules A, B ou C, est légèrement inséré plus haut que les deux autres ; de plus, son développement est souvent plus avancé. C'est l'ovule qui sera fécondé le premier en général; ici, il faut remarquer que le cas d'une fécondation d'un autre ovule de la même série A, B, C est plus commun que dans les *Corylus* ou *Carpinus*. Il n'est pas rare, en effet, de trouver des fruits à deux graines ; quelquefois l'ovule A et l'ovule B se développent parallèlement jusqu'à la maturité ; d'autres fois, l'un d'eux présentant les premiers stades de la division de l'oosphère cesse de croître après avoir suivi le développement de l'autre pendant un certain temps.

Quoi qu'il en soit, il est à remarquer que la série *a*, *b*, *c* ne donne pas d'ovules développés normalement. Ici l'intervalle qui sépare la pollinisation de la fécondation est beaucoup plus réduit que chez les *Corylées*.

La fécondation détermine, comme chez les *Corylées*, une

Digitized by Google

excitation qui provoque le développement de l'ovule aux dépens des ovules voisins, fécondés ou non.

Conclusion. — En résumé, on peut dire que la fécondation peut s'opérer indistinctement dans tous les ovules des Cupulifères. Une disposition particulière de l'ovule par rapport au funicule et une différenciation plus précoce des sacs embryonnaires permettent au tube pollinique de féconder l'oosphère dans le minimum de temps. L'ovule, fécondé le premier, se développe normalement aux dépens des autres, fécondés ou non, par suite d'une excitation consécutive à la fécondation.

CHAPITRE V

L'EMBRYON

Avant de commencer l'étude de l'embryon, je vais donner ici un aperçu du procédé que j'ai employé pour en faire l'étude anatomique.

Toutes les coupes ont été faites au microtome, donnant des séries complètes de coupes successives ; il est souvent utile d'étudier les coupes en séries et de les examiner sous la plus petite épaisseur possible. Le principal avantage du procédé que je vais décrire, c'est de pouvoir examiner sur la même lame de verre toutes les coupes traitées au préalable par les réactifs convenables.

La lame de verre est recouverte d'une très petite quantité d'albumine glycérinée (il suffit de passer le doigt à peine humecté et de frotter jusqu'à ce que la lame soit sèche) ; on ajoute ensuite de l'eau distillée en excès ; puis on dispose la série des préparations incluses sur la lame ainsi préparée. On chauffe ensuite la platine à une température légèrement inférieure au point de fusion de la paraffine, puis beaucoup plus longtemps, de une demi-heure à trois quarts d'heure, à une température légèrement supérieure au point de fusion.

On porte ensuite la lame, mise dans une boîte en verre, à l'étuve et on l'y laisse de un à deux jours ; ici encore il importe de dépasser légèrement la température à laquelle fond la paraffine employée

Digitized by Google

L'ordre des traitements que l'on fait subir à la série ainsi préparée est le suivant :

1° xylol; 2° alcool absolu ; 3° alcool 80°; 4° alcool 70°; 5° eau distillée.

On laisse les préparations cinq minutes environ dans chaque bain. Sur la lame à plat sortant de l'eau distillée, on verse ensuite avec le compte-gouttes, de l'hypochlorite de soude étendu d'un tiers d'eau (dix, quinze minutes), puis de l'hypochlorite pur (deux minutes). Le traitement complet à l'hypochlorite ne peut dépasser deux heures; en général, quinze à vingt minutes suffisent. Si la série a été bien collée suivant les indications ci-dessus, aucune coupe ne doit se détacher de la lame. On continue ensuite à traiter les coupes suivant le procédé habituel, en les faisant passer successivement dans les bains suivants :

Potasse ; eau acétique forte ; eau acétique faible ; eau distillée; alcool ; colorant.

Pour toutes ces manipulations dont la durée pour chaque bain ne doit pas dépasser un quart d'heure, il importe de placer de champ la lame dans les différents bains.

On colle au baume de Canada, comme à l'ordinaire, et on a sur une seule lame toutes les coupes de la série, qui doivent être au complet si l'opération a été bien conduite.

Développement de l'embryon.

Le développement de l'embryon se fait chez les différentes espèces d'une façon presque analogue. On envisagera successiment les *Corylées* et les *Fagées* en prenant comme type dans chaque groupe, d'une part le *Carpinus Betulus*, d'autre part le *Quercus Robur*.

Corylées. — Si l'on fait une coupe longitudinale axiale d'un ovule de Charme, quelque temps après la fécondation, on remarque un embryon quelquefois axial, quelquefois légèrement rejeté sur le côté du nucelle. Il est constitué par une masse sphérique comprenant un protoplasma abondant, avec noyaux riches en nucléoles. Cet embryon est relié au sommet du nucelle par quelques cellules allongées dans le sens axial et en continuation directe avec lui; ces cellules constituent le suspenseur,

Digitized by Google

très réduit, dont l'épiderme se continue avec celui de l'embryon; c'est en effet l'épiderme qui se différencie le premier; le suspenseur ne persiste pas longtemps; au moment où les cotylédons commencent à se différencier, ses cellules disparaissent et l'embryon reste libre dans le nucelle.

Le parenchyme de l'embryon reste homogène quelque temps après la fécondation, l'assise épidermique seule se différencie : elle est constituée par des cellules régulièrement polyédriques, légèrement allongées tangentiellement; seule, la forme de l'embryon varie; de sphérique, sa masse devient ovoïde, puis, par croissance intercalaire et basifuge, il différencie à son extrémité deux renflements, qui sont les deux rudiments des cotylédons.

Leur épiderme est en continuité directe avec celui de l'axe hypocotylé et les deux branches laissent entre elles un espace réservé à la future gemmule. Tout le reste du nucelle est occupé par des cellules polyédriques à gros noyaux en voie de division. Ce sont des cellules de l'albumen transitoire, qui sera digéré par les cotylédons au fur et à mesure de leur développement.

Une coupe. pratiquée parallèlement aux jeunes cotylédons, à un stade plus avancé, permet de se rendre compte de la différenciation précoce des cordons procambiaux, futures nervures des cotylédons. La formation de ces cordons procambiaux est la suivante : des cellules se groupent sur les bords du parenchyme cotylédonaire confinant à la zone sous-épidermique, elles s'allongent en files obliques ou transversales. Ce n'est que plus tard que les cordons s'orientent d'une façon définitive, de manière à constituer les nervures caractéristiques de la feuille cotylédonaire.

L'extrémité de ces cordons se raccorde avec le parenchyme polyédrique du cotylédon par des cellules intermédiaires non allongées. L'ensemble de ces cordons procambiaux est d'un aspect foncé, qui résulte de l'épaississement de leurs parois et du tassement de leurs cellules dans une même direction.

Au fur et à mesure de leur différenciation, les noyaux se rapprochent des parois et, petit à petit, finissent par disparaître, c'est sur l'emplacement de ces cordons que se différencieront les vaisseaux du bois et du liber.

Digitized by Google

On verra par la suite que, dans les cotylédons, la marche de la différenciation des éléments vasculaires se poursuit plus rapidement que dans le reste de l'embryon. Le parenchyme cotylédonaire est formé de grandes cellules polyédriques avec un épiderme interne différent de l'épiderme externe. Les cellules de cet épiderme interne sont allongées tangentiellement, elles sont d'ailleurs de plus grandes dimensions que celles de l'épiderme opposé. Les faisceaux libéro-ligneux non encore différenciés en bois et en liber sont répartis dans ce parenchyme suivant la disposition qu'ils auront dans la feuille (1).

Dans la graine mûre, leur orientation est définitive, mais leur différenciation n'est pas encore établie. Quelques tubes criblés apparaissent seulement çà et là ; quant aux vaisseaux ligneux, ils ne sont encore qu'ébauchés, et leurs parois cellulaires prend à peine les teintes des réactifs caractéristiques du bois ; quant à la forme des vaisseaux, elle n'est pas non plus caractéristique.

On verra plus loin que chez les Fagées, la différenciation des éléments vasculaires est bien plus précoce.

Une coupe transversale pratiquée dans l'axe hypocotyle de la graine mûre, permet de distinguer les trois zones caractéristiques : un épiderme, un parenchyme cortical et un parenchyme central. Ce parenchyme central est formé de cellules plus petites qui est l'anneau procambial sur l'emplacement duquel se différencieront les faisceaux libériens et ligneux. Les cellules du parenchyme cortical sont disposées tangentiellement et radialement ; les unes sont régulièrement polyédriques, les autres à parois arrondies et légèrement épaissies.

Quant à l'épiderme, ses cellules présentent en général un allongement radial prédominant.

Fagées. — Le développement de l'embryon est à peu près identique chez les *Fagées* et les *Corylées* jusqu'au moment où la graine approche de la maturité. L'embryon de *Quercus Robur* notamment présente une masse homogène au début, formée de cellules à gros noyaux en voie de division active. Comme chez le *Carpinus*, l'épiderme se différencie de bonne heure. Le sus-

(1) Godfrin, *Recherches sur l'anatomie comparée des cotylédons et de l'albumen* (Ann. Sc. nat. Bot., 6e série, 1884-1885, p. 5).

Digitized by Google

penseur, rudimentaire comme celui du Charme, persiste plus longtemps que ceux du *Fagus* et du *Castanea* ; on en voit encore les traces quelques semaines avant la maturité de la graine.

Au fur et à mesure que les cotylédons se développent, les cordons procambiaux commencent à se différencier et les cotylédons n'ont pas encore atteint le tiers de leurs dimensions définitives que déjà on distingue les futures nervures foliaires. Elles apparaissent ici, comme chez le Châtaignier, de très bonne heure, plus tardivement chez le *Fagus*.

Environ six semaines avant la maturité de la graine, on trouve une structure de l'embryon identique à celle du Charme ; mais à partir de ce stade du développement de la graine, on va noter une différence très importante, qui consiste dans l'apparition prématurée du liber et du bois. Les embryons des *Corylées* ne présentent point de vaisseaux nettement différenciés avant la germination ; ceux des *Fagées* (le *Fagus* excepté) montrent une différenciation précoce des éléments vasculaires avant la germination.

Avant d'étudier l'embryon dans la graine mûre, on en commencera l'étude un mois avant la maturité ; il sera plus facile alors de suivre le développement comparé des cotylédons, de la tigelle et de la radicule dans l'espèce choisie : *Quercus Robur*.

A. *Un mois avant la maturité.* — Les cotylédons sont constitués par un parenchyme formé de cellules arrondies au centre, polyédriques et à méats dans la région sous-épidermique.

Les faisceaux libéroligneux non encore complètement différenciés présentent un parenchyme constitué par de petites cellules cloisonnées dans tous les sens : les unes sont polyédriques, d'autres tabulaires, d'autres allongées et obliques. Une coupe transversale pratiquée quelques jours plus tard permet de suivre la formation des vaisseaux. Le premier vaisseau annelé apparaît au centre de ce cordon procambial (fig. 40), d'autres se différencient en direction latérale puis du côté externe.

En même temps, le liber apparaît *nettement superposé* aux vaisseaux ligneux. Les tubes criblés sont peu nombreux, on en

Digitized by Google

remarque quelques-uns dans la région inférieure et moyenne des cotylédons ; les cellules qui constituent le liber sont petites, aplaties, à contours sinueux, plus rarement polyédriques (40).

En dehors de cette formation du tissu vasculaire sur l'emplacement même des éléments procambiaux, il en est une autre, indépendante de ces éléments. Lorsqu'on suit sur plusieurs coupes en séries le développement des faisceaux, on peut faire les constatations suivantes. Dans le parenchyme cotylédonaire, un groupe de cellules quelconques se divisent et donnent directement des vaisseaux ligneux et libériens, les premiers existant assez souvent seuls.

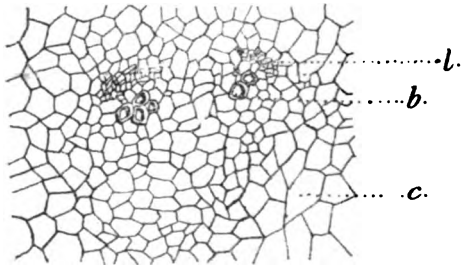


Fig. 40. — Coupe transversale d'une portion de cotylédon de *Quercus Robur* : *b*, bois; *l*, liber superposé au bois *b* ; *c*, parenchyme cotylédonaire (un mois avant la maturité de la graine).

Les coupes pratiquées à différents niveaux sur la moitié d'un cotylédon de *Quercus* ont montré l'existence de douze à quinze zones ainsi différenciées en faisceaux libéroligneux ou simplement ligneux.

Sur l'emplacement du tissu procambial primitif, le liber et le bois apparaissent simultanément ; dans ces faisceaux supplémentaires, le bois apparaît d'abord et le liber ensuite, quand il existe.

Quel est le rôle de ces faisceaux supplémentaires ? Il est probable qu'il faut voir dans leur différenciation une cause purement physiologique. Le Chêne présente en effet une graine exalbuminée avec des cotylédons volumineux contenant des quantités considérables de réserves amylacées. Or, ces réserves subissent déjà, même avant la germination, un commencement de digestion. Les faisceaux normaux étant insuffisants pour assurer le transport des matières nutritives issues de la digestion vers l'axe hypocotylé, il s'en forme d'autres, d'après le processus indiqué. Il est évident que la différenciation hâtive de l'embryon et la présence de nombreux cribles dans la tigelle donnent raison à cette hypothèse. D'ailleurs, ces faisceaux anor-

Digitized by Google

maux sont transitoires et sur plusieurs coupes faites à un stade du développement plus avancé, on note leur disparition sur place.

L'axe hypocotylé, étudié au même stade de développement que le cotylédon, présente nettement les trois régions caractéristiques : parenchyme cortical, anneau procambial, moelle. L'épiderme est formé de cellules régulièrement polyédriques, un peu allongées radialement, puis vient un parenchyme formé de cellules polyédriques avec méats, sphériques dans les parties sous-jacentes. L'anneau procambial n'est pas continu ; il est fragmenté en autant d'îlots qu'il y aura de faisceaux à la maturité de la graine. Ces îlots comprennent un parenchyme serré analogue à celui des faisceaux procambiaux des cotylédons, entre eux se trouve du conjonctif avec cellules à dimensions moins réduites.

Enfin la moelle est constituée par des cellules sphériques avec méats.

Dans l'anneau procambial se différencient déjà, du côté externe des îlots, des tubes criblés nettement mis en évidence après traitement à la potasse. La radicule se distingue de suite de la tigelle par l'absence d'épiderme. Les cellules qui la limitent sont allongées tangentiellement ; quant aux autres régions, elles correspondent à la tigelle, bien qu'étant plus réduites. L'anneau procambial est interrompu également en certains points et remplacé par du conjonctif plus serré que celui de la tigelle : c'est sur cet emplacement que se différencieront plus tard les vaisseaux du bois.

B. *Graine mûre.* — Dans les cotylédons (fig. 41, I et II) le faisceau libéroligneux est complètement formé et l'assise génératrice est déjà différenciée, les vaisseaux annelés et spiralés sont disposés en files radiales avec du liber qui leur est directement superposé; cette disposition est particulièrement typique dans le pétiole cotylédonaire (fig. 41). Quant à l'assise génératrice, elle se forme selon le processus habituel, le cloisonnement tangentiel des cellules se fait d'abord dans la zone comprise entre le bois et le liber déjà formé, mais reste limité à cette région.

L'axe hypocotylé présente maintenant des vaisseaux nette-

Digitized by Google

ment différenciés. Le premier vaisseau ligneux qui apparaît se forme entre les îlots procambiaux, en alternance avec les tubes

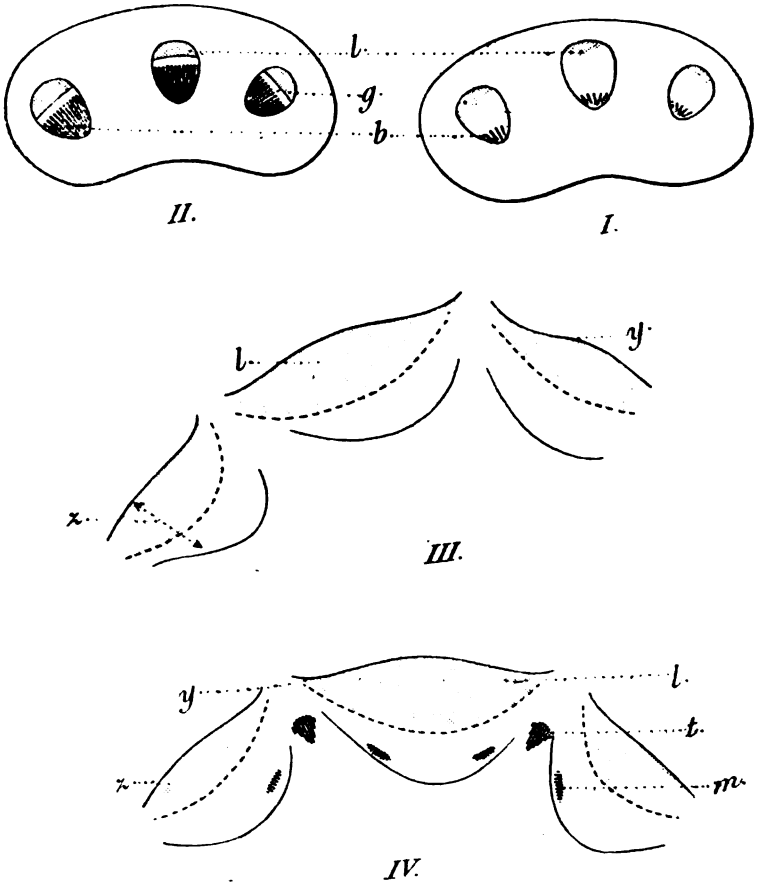


Fig. 41. — I et II. Pétiole cotylédonaire de l'embryon de *Quercus Robur*. — Coupe schématique : I. (Avant la maturité de la graine); II. (A la maturité de la graine). Le faisceau libéroligneux est représenté avec le liber *l* et bois *b*, complètement différencié et avec assise génératrice *g* en II. — III et IV. Axe hypocotylé. — Coupe schématique au tiers supérieur : III. (Avant la maturité de la graine); IV. (A la maturité de la graine); *y*, péricycle; *l*, liber (tubes criblés); *z*, tissu procambial; *t*, protoxylème en régression au 5e jour de la germination; *m*, métaxylème.

criblés préexistants ; peu à peu ils s'en forme d'autres et l'ensemble se présente sous la forme de petits paquets formés de cellules petites à parois très épaisses, fortement colorés par les réactifs de la lignine. Un peu après, il se forme d'autre bois, celui-ci en structure superposée latéralement, les cellules

Digitized by Google

qui le constituent sont plus grandes et les parois moins épaissies (fig. 41, III et IV). L'axe hypocotylé présente donc à un moment donné, et pendant un temps très court, une structure alterne simple, puis une structure double comprenant du bois alterne en direction radiale et des vaisseaux ligneux formés sur l'emplacement du tissu procambial et superposés latéralement au liber (fig. 41, IV). Ces vaisseaux superposés au liber se différencient d'abord latéralement, dans le sens centripète. Localement, en face des faisceaux libéroligneux qui commencent à se dessiner, on remarque la formation du métaxylème. Ce n'est que du cinquième au dixième jour de la germination que ce bois de deuxième formation se différencie dans le sens centrifuge en face du liber préexistant (1).

Une coupe transversale pratiquée dans la partie moyenne de la radicule montre quelques tubes criblés, situés à la partie externe du tissu procambial ; ces tubes criblés, encore nombreux dans la partie intermédiaire comprise entre la tigelle et la radicule, diminuent au fur et à mesure qu'on se rapproche de l'extrémité de la radicule ; dans cette région intermédiaire, on note l'apparition de quelques vaisseaux du bois peu nombreux, disposés en alternance avec le liber. Quant à la radicule, elle ne présente pas encore d'éléments ligneux différenciés.

On voit déjà que, bien avant la germination, le développement de l'embryon est nettement accusé ; ce fait a déjà été constaté pour quelques espèces.

Castanea vulgaris. — La structure de l'embryon de Châtaignier est la même que celle du Chêne, en le considérant aux mêmes stades que ceux qui viennent d'être décrits. On assiste pareillement au développement accéléré du cotylédon bien avant la maturité de la graine ; les faisceaux libéroligneux se différencient de la même façon dans les cotylédons ; on constate ici un nombre plus restreint des faisceaux supplémentaires, signalés à propos du Chêne ; leur structure est identique ainsi que leur mode de formation. Quant à la disposition primitive du bois par rapport au liber, elle est toujours la même : il y a superposition des éléments vasculaires sans aucune alternance.

(1) Voir G. Chauveaud, *Sur le passage de la structure primaire à la structure secondaire dans le Haricot* (Voy. *Index bibliographique*).

Digitized by Google

Dans l'axe hypocotylé, on remarque, comme dans celui du Chêne, une différenciation première des tubes criblés, puis une structure superposée latérale. Au même stade du développement les cotylédons présentent leurs faisceaux libéroligneux nettement différenciés, avec commencement de différenciation de l'assise génératrice (fig. 41, I et II). Par contre, la radicule, dont le développement est toujours tardif, ne contient que quelques tubes criblés sans aucun vaisseau.

L'analogie est donc très grande entre ces deux espèces : elle se poursuit d'ailleurs au cours de la germination.

Les caractères principaux résumés de cette étude sur l'embryon des *Corylées* et des *Fagées* sont les suivants. L'embryon se développe d'une façon analogue dans les deux groupes, depuis la fécondation de l'ovule jusqu'au moment où les cotylédons sont complètement formés (un mois avant la maturité, environ). Il est pourvu d'un suspenseur très réduit, qui reste rudimentaire et disparaît bientôt (excepté chez le Chêne). La résorption de l'albumen a lieu de fort bonne heure et les cotylédons épais et à réserves nombreuses (*Quercus Castanea*), moins épais et moins développés (Corylées et *Fagus*), se différencient toujours en premier.

Chez les Corylées et chez les *Fagus*, l'embryon ne présente aucune formation de vaisseaux ligneux jusqu'à la maturité. Seul le *Fagus silvatica* présente quelques cribles dans la tigelle.

Le *Quercus Robur* et le *Castanea vulgaris* accusent au contraire une différenciation précoce de leurs éléments vasculaires. Ils présentent même des vaisseaux supplémentaires dans les cotylédons, qui disparaissent sur place à la germination.

On assiste donc à une accélération très marquée dans la différenciation des éléments vasculaires, cette accélération étant toujours nettement basifuge dans les cotylédons (1).

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les recherches précédentes sur les fleurs, les fruits et l'embryon des Cupulifères permettent d'établir les caractères parti-

(1) Voir, à ce sujet, G. Chauveaud, *Sur le passage de la structure primaire à la structure secondaire dans le Haricot* (Bull. Mus. Hist. nat., 1901, n° 1, p. 23).

Digitized by Google

culiers des espèces décrites en même temps que ceux des groupes auxquels elles appartiennent.

L'étude comparée de la bractée, de l'écaille de bourgeon et de la cupule montre quelles sont les modifications successives qui se sont produites dans la feuille au fur et à mesure de sa différenciation en organe de protection et de soutien. Chez une même espèce, on note, au cours de cette différenciation, un accroissement prédominant de la bractée du côté de sa face interne ; la formation de sclérenchyme périvasculaire, d'abord restreint (bractée), développé en arc autour des faisceaux (écaille des bourgeons), formant ensuite un anneau complet (cupule).

Dans le Charme comme dans le Noisetier, il y a une zone de localisation de cristaux d'oxalate de chaux sous l'épiderme et à des profondeurs différentes selon les espèces. Chez les Fagées, cette zone se trouve localisée entre les vaisseaux et non plus sous l'épiderme.

La cupule de *Fagus silvatica*, de même que celle de *Castanea vulgaris*, est constituée par la soudure, bord à bord, des quatre bractées des fleurs secondaires auxquelles viennent se souder huit stipules ou bractéoles alternant entre elles et opposées aux bractées de cette fleur. Dans la cupule de *Fagus*, on assiste au dédoublement du faisceau le plus interne.

L'origine foliaire de la cupule n'est donc pas douteuse.

Par leur parenchyme cellulosique, dans lequel sont disséminés des îlots de sclérenchyme, le *Castanea* et le *Quercus* se distinguent du *Fagus* dont le parenchyme est totalement sclérifié. Il existe pour chacun des organes étudiés et pour chaque espèce considérée des caractères spécifiques très nets.

Le développement de l'anthère se poursuit d'une façon identique chez les deux groupes. Dans toutes les espèces étudiées, la division de l'assise sous-épidermique donne quatre assises dont une seulement, l'assise mécanique, persiste à la maturité. Celle-ci présente des caractères communs à toutes les espèces : bandelettes cellulosiques disposées perpendiculairement aux parois et dans le sens tangentiel ; l'épiderme, lorsqu'il est lignifié (*Corylus*, *Castanea*), influe sur la déhiscence qui devient inverse. Lorsque l'épiderme reste cellulosique, la déhiscence a lieu sur

Digitized by Google

place par simple écartement des deux valves primitivement en contact (*Carpinus*, *Castanea*, *Fagus*). Il n'y a pas ici de caractère différentiel des deux groupes, mais cette distinction devient évidente quand on étudie les styles.

Les styles des Corylées présentent les caractères suivants :

Absence de système vasculaire, parenchyme cellulosique avec méats, épiderme avec cellules allongées radialement au travers desquelles peut se développer le tube pollinique, cellules pouvant se résorber de façon à donner un canal central (tissu conducteur). Le style des Fagées présente un système vasculaire bien différencié, un arc de sclérenchyme périvasculaire, un tissu conducteur situé à la partie inférieure de chaque branche stylaire. Chez le *Castanea*, les différentes branches stigmatiques incomplètement soudées, déterminent plusieurs fissures conductrices ; il n'y a pas ici correspondance de ces fissures conductrices du style central avec celles des branches stylaires, comme cela a lieu chez le *Fagus* et le *Quercus*.

Les observations faites sur les ovules de Cupulifères ont montré que deux causes principales favorisent la fécondation : c'est, d'une part, le mode d'attache de l'ovule et, d'autre part, sa maturité plus ou moins avancée.

On remarque, chez les Corylées, que les ovules ne s'insèrent pas, en général, sur le placenta en deux points rigoureusement opposés : l'un A, présente un point d'insertion plus rapproché de la base des styles que celui de l'ovule B appartenant à l'autre carpelle. De plus, cet ovule A présente son hile presque opposé à la chalaze alors que le hile de l'ovule B se trouve un peu plus haut par rapport à sa chalaze.

Il est à remarquer que cet ovule A présente une maturité plus précoce que l'ovule opposé ; il se trouve alors fécondé le premier par le tube pollinique, qui suivra de préférence le chemin le plus court pour arriver jusqu'au nucelle (chalazogamie). La fécondation, déterminant une excitation du développement, aura pour conséquence l'avortement de l'ovule B, fécondé ou non.

Les ovules de Fagées pris deux à deux (un dans chaque carpelle) présentent la même disposition que ceux du *Corylus*. Ce sera l'un des ovules dont le point d'insertion se trouve le

Digitized by Google

plus rapproché de la base des styles, qui sera fécondé le premier.

On voit donc que, d'une façon générale, l'ovule fécondé et se développant à l'exclusion des autres est celui qui présente une maturité précoce, jointe à une disposition telle de son point d'insertion que le tube pollinique mette le minimum de temps à le féconder.

Le développement de l'embryon se poursuit chez les Corylées et chez les Fagées d'une façon identique; le suspenseur, toujours réduit à quelques cellules, disparaît en général quelques semaines après la fécondation (le *Quercus* excepté). Les embryons des *Corylées* ne sont pas toujours axiaux. Lorsque l'embryon est excentrique par rapport au nucelle, cela tient à ce que la fécondation a porté sur un sac embryonnaire inférieur dont l'oosphère occupe elle-même une position excentrique (Charme).

L'étude anatomique de l'embryon montre que le système vasculaire ne se différencie pas avant la germination chez le *Corylus*, le *Carpinus* et le *Fagus*. Il n'en est pas de même chez le *Quercus* et le *Castanea*. Un mois avant la maturité, les cotylédons de ces espèces présentent une différenciation très nette de leurs éléments vasculaires; le liber et le bois sont en structure superposée dans le cotylédon et dans le pétiole cotylédonaire. Indépendamment de ces vaisseaux formés sur l'emplacement du tissu procambial, il en est d'autres qui se différencient entre les cellules du parenchyme cotylédonaire; ils sont transitoires et disparaissent par régression du cinquième au dixième jour de la germination. Leur formation paraît être une conséquence des phénomènes de digestion qui se produisent dans les cotylédons bien avant la maturité.

L'axe hypocotylé présente des tubes criblés qui apparaissent en premier lieu, puis du bois en structure alterne (protoxylème) et enfin du métaxylème en structure superposée et oblique par rapport au liber néoformé. Le protoxylème disparaît quelques jours après la germination.

Les embryons du *Castanea vulgaris* et du *Quercus Robur* présentent une différenciation précoce de leurs éléments vasculaires; leur développement est basifuge dans les cotylédons.

Les considérations qui précèdent sur l'anatomie des Cupuli-

Digitized by Google

fères nous permettent de caractériser anatomiquement les groupes établis : Corylées et Fagées.

Le premier groupe est très homogène, les *Corylus Avellana* et *Carpinus Betulus* présentent des rapports très étroits, beaucoup plus que ceux qui réunissent les Fagées entre elles.

Dans ce deuxième groupe, le *Fagus silvatica* présente des caractères marqués. Le *Quercus Robur* et le *Castanea vulgaris* ont entre eux une bien plus grande analogie.

BIBLIOGRAPHIE

Baillon, *Hist. des plantes*, VI, 227, 1878.

M. Benson, Contributions to the embryology of the Amentiferæ, Part. I, *The transactions of the Linneun Society of London*, vol. III, part. X, febr. 1894.

G. Bonnier et Leclerc du Sablon, Cours de Botanique, p. 1027.

A. de Candolle, *Prodromus*, XVI, sect. II, 1864.

C. de Candolle, 1° Sur les bractées florifères. *Bulletin de l'Herbier Boissier*, VI, n° 3, p. 124-125.

— 2° Anatomie comparée des feuilles. *Mémoire Sc. phys. et Hist. nat. de Genève*, 1879, p. 443.

G. Chauveaud, Sur le passage de la structure primaire à la structure secondaire dans le Haricot. *Extrait du Bulletin du Muséum d'Hist. nat.*, 1904, n° 1, p. 23. — Disposition alterne des Chénopodiacées. *Bulletin de la Soc. de Bot. de France*, 1906, t. LIII, p. 369.

Döll, Zur Erklärung des Laubknospen der Amentaceen, p. 22, 1848.

Eichler, *Blüthendiagramme*, VII, p. 20-31, 1878.

Engler et Prantl (voir Prantl).

Guéguen, Anatomie comparée du tissu conducteur du style et du stigmate des Phanérogames. *Ann. Sc. anat. Bot.*, p. 62-64, Paris, 1887.

Godfrin, Recherches sur l'anatomie comparée des cotylédons et de l'albumen. *Ann. Sc. nat. Bot.*, 1884-85, p. 5, 97 et 129.

Leclerc du Sablon, Recherches sur la structure et la déhiscence des anthères. *Ann. Sc. nat. Bot.*, 7e série, p. 97 à 134.

Lothelier, Recherches anatomiques sur les épines et les aiguillons des plantes. *Rev. gén. de Bot.*, t. V, 1893.

S. Navaschine, 1° Zur Embryobildung der Birke. *Bull. Acad. imp. des Sc. Saint-Pétersbourg*, t, XIII, 1893.

— 2° Kurzer Bericht meiner fortgesetzten Studien über die Embryologie der Betulinen. *Id.*, 1894.

— 3° Zür Entwickelungsgeschichte der Chalazogamen Corylus Avellana. *Id.*, 1899.

Payer, *Fam. nat.*, 164, 1847.

Prantl, *Pflanzenfamilien*, III Teil, 1894, p. 38 et 47.

Schacht, *Beitr.* 1-36, T. S ; *Der Baum*, t. III, 1864.

Solereder, *Systematische Anatomie*, p. 895, Stuttgart, 1899. — Supplément, 1909.

Tognini, Ricerche di morphologia ed anatomia sul fiore feminile e sul frutto del Castagno. *Atti del R. Inst. dell' Univ. di Pavia*, 1892.

Van Tieghem, *Traité de Botanique*, p. 1419.

Digitized by Google

TABLE DES MATIÈRES

CONTENUES DANS CE VOLUME

Contribution à l'étude des Mortiérellées, par J. Dauphin 1
Recherches anatomiques sur l'embryon et la germination des Cannacées et des Musacées, par C.-L. Gatin 113
Contribution à l'étude des grains d'aleurone et particulièrement des globoïdes, par J. Beauverie..... 147
Orientation de l'ovule dans le pistil et de l'embryon dans la graine des Valérianacées, par Ph. van Tieghem 176
Observations sur les Diatomées, par L. Mangin..... 177
Recherches anatomiques sur la germination des Hypéricacées et des Guttifères, par G. Brandza..... 221
Recherches sur les Cupulifères, par L. Pauchet..... 301

TABLE DES PLANCHES ET DES FIGURES DANS LE TEXTE

CONTENUES DANS CE VOLUME

Planches I et II. — Structure de l'embryon des Cannacées et des Musacées.
Planches III et IV. — Structure des grains d'aleurone.
Planches V à XV. — Structure de l'embryon des Hypéricacées et des Guttifères.
Figures dans le texte 1 à 45. — Structure des Mortiérellées.
Figures dans le texte 1 à 34. — Embryon et germination des Cannacées et des Musacées.
Figures dans le texte 1 à 14. — Structure des Diatomées.
Figures dans le texte 1 à 41. — Structure des Cupulifères.

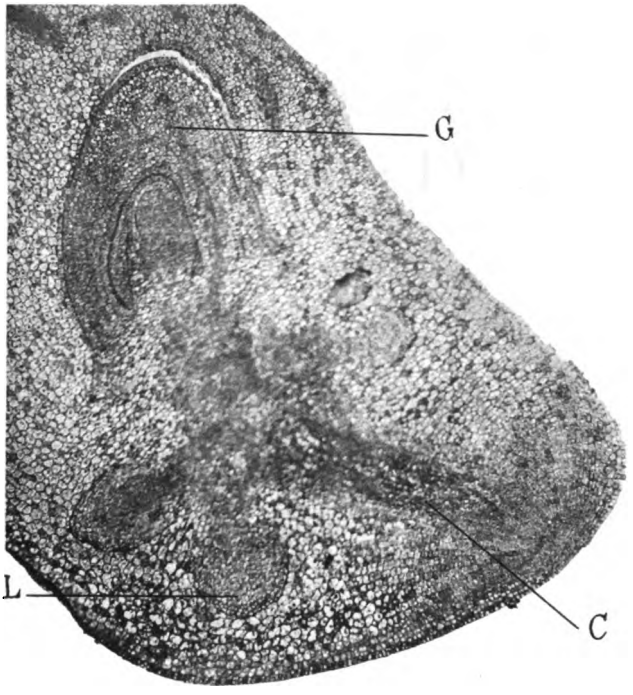
TABLE DES ARTICLES

PAR NOMS D'AUTEURS

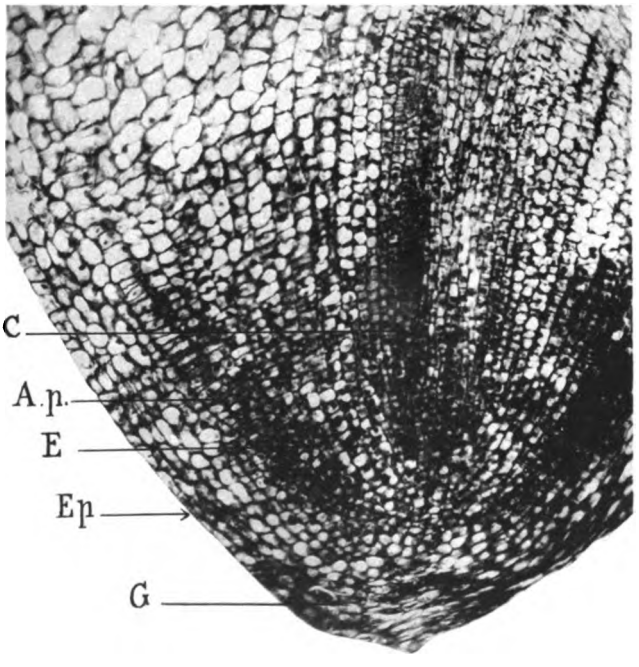
Beauverie (J.). — Contribution à l'étude des grains d'aleurone et particulièrement des globoïdes 147
Brandza (G.). — Recherches anatomiques sur la germination des Hypéricacées et des Guttifères..... 221
Dauphin (J.). — Contribution à l'étude des Mortiérellées..... 1
Gatin (C.-L.). — Recherches anatomiques sur l'embryon et la germination des Cannacées et des Musacées..... 113
Mangin (L.). — Observations sur les Diatomées 177
Pauchet (L.). — Recherches sur les Cupulifères..... 301
Tieghem (Ph. van). — Orientation de l'ovule dans le pistil et de l'embryon dans la graine des Valérianacées..... 176

Digitized by Google

Digitized by Google



1



2

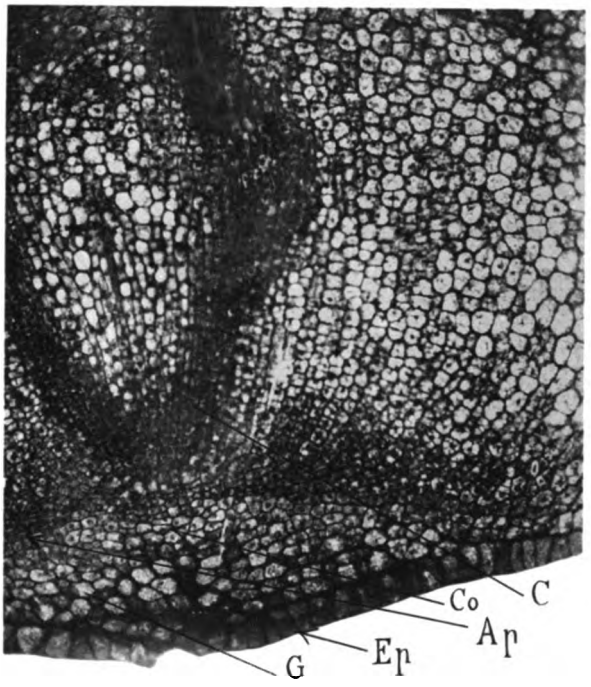
1. — Canna coccinea. Ait.
2. — Canna indica L.

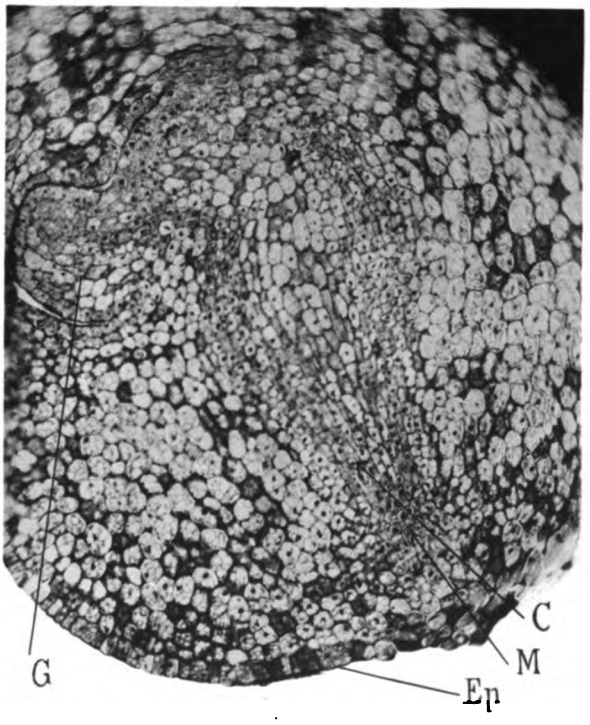
Masson & Cie, Éditeurs

Phototypie Berthaud, Paris

Digitized by Google

Digitized by Google





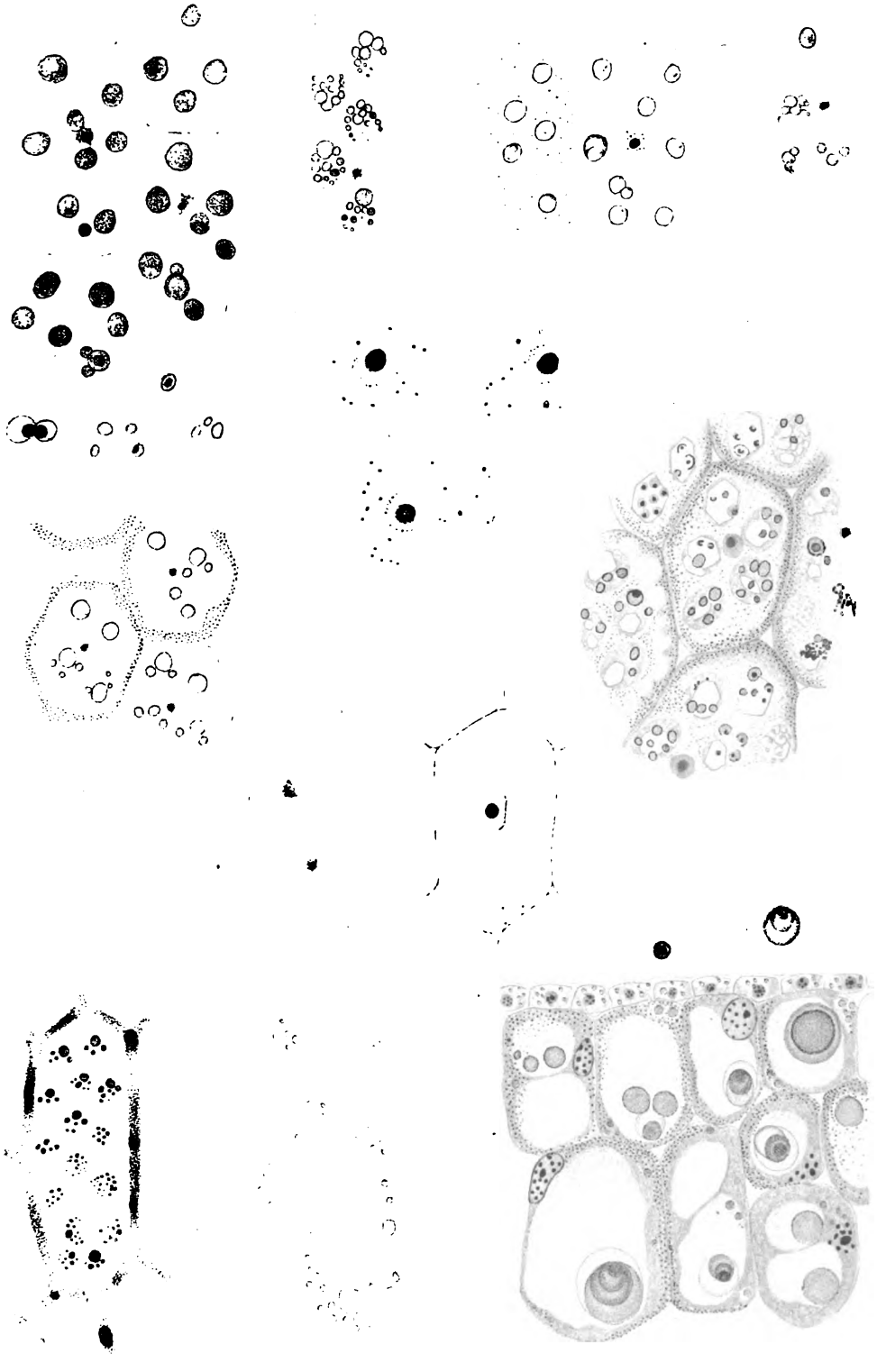
1. — Ravenala madagascariensis Sonnerat.
2. — Heliconia Bihaï L.

Masson & Cie, Éditeurs

Digitized by Google

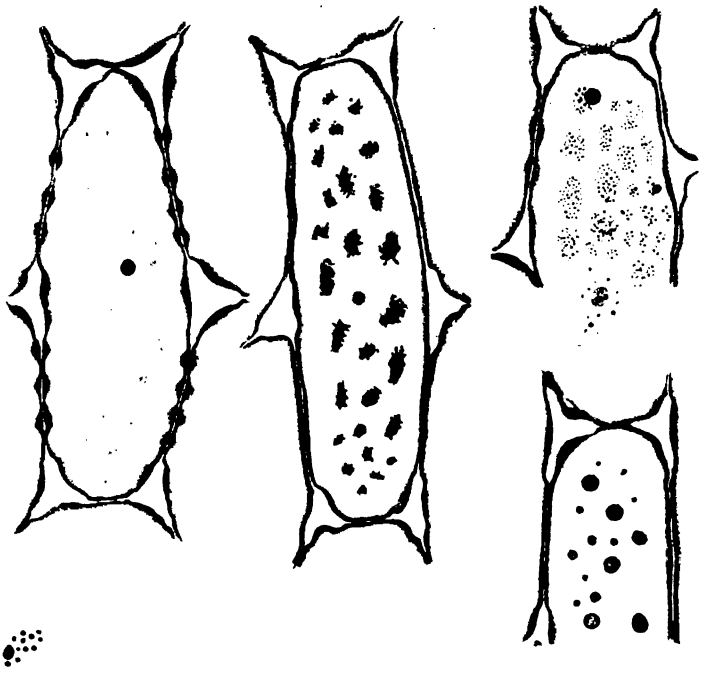
Phototypie Berthaud.

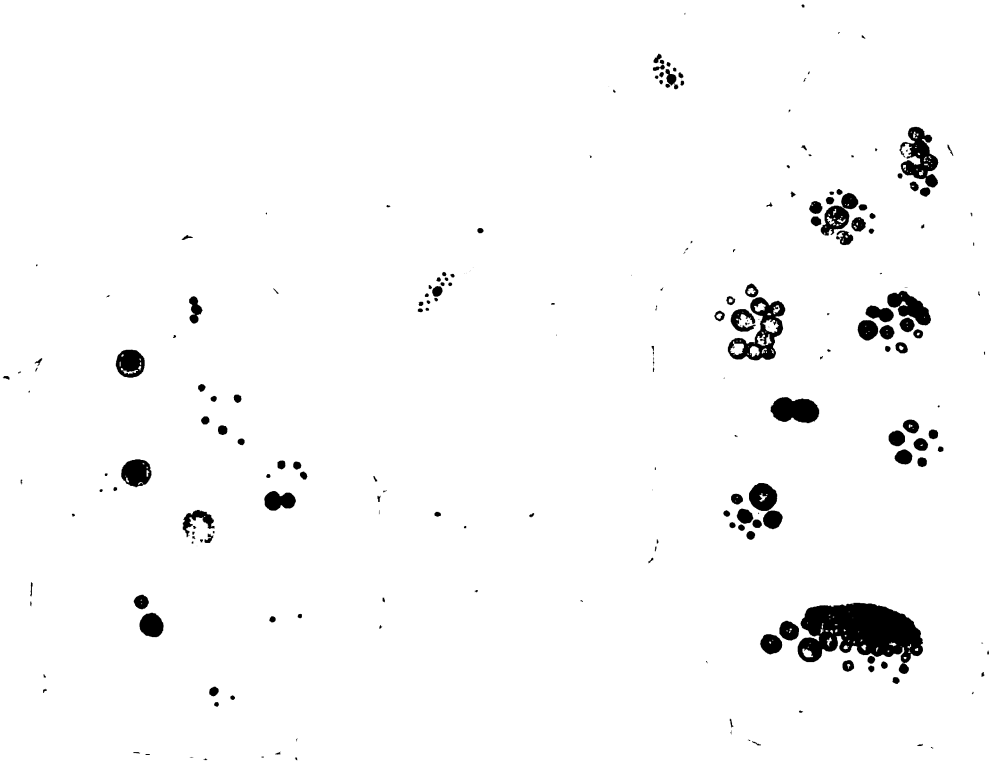
Digitized by Google



Digitized by Google

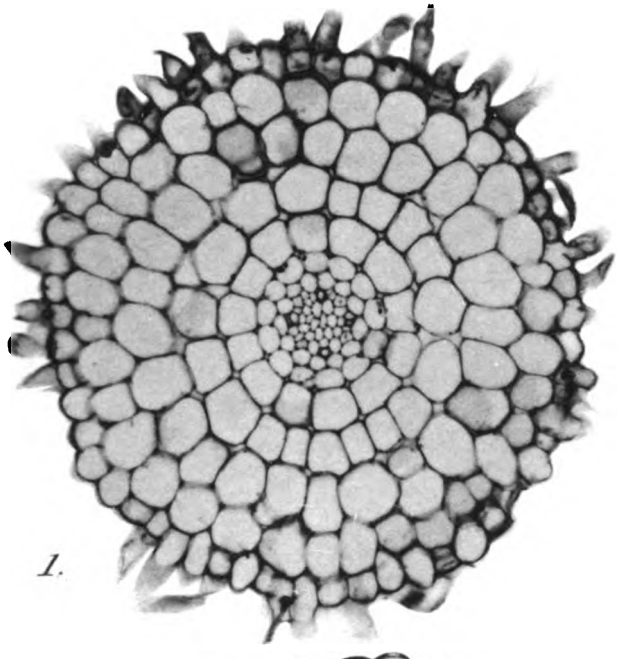
Digitized by Google

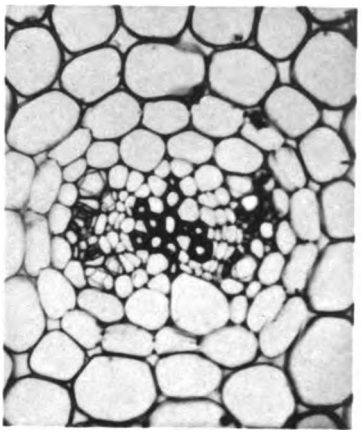


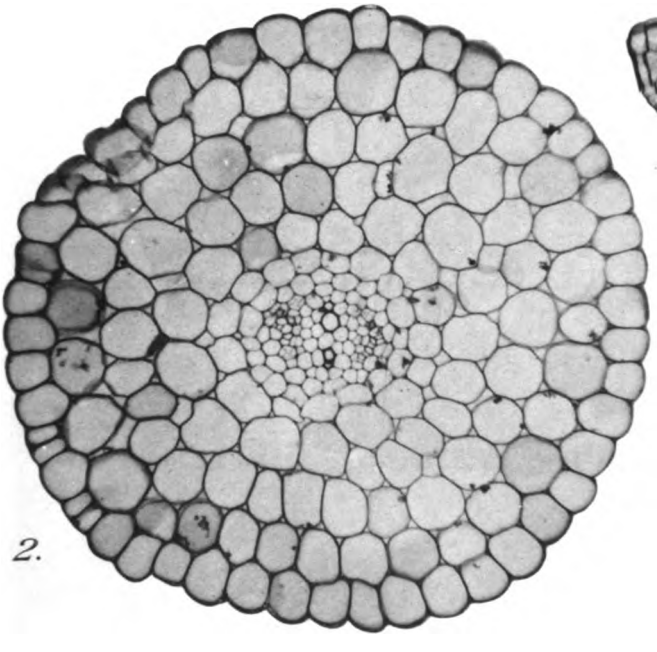


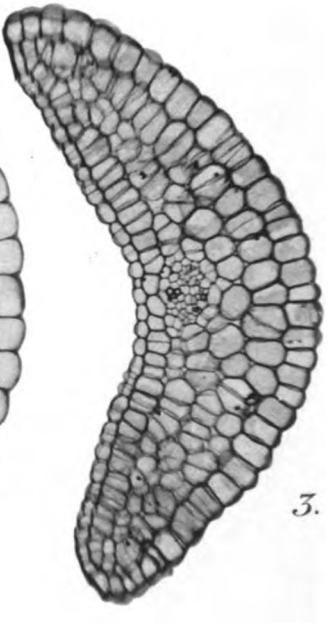
Digitized by Google

Digitized by Google









G. Brandza phot.

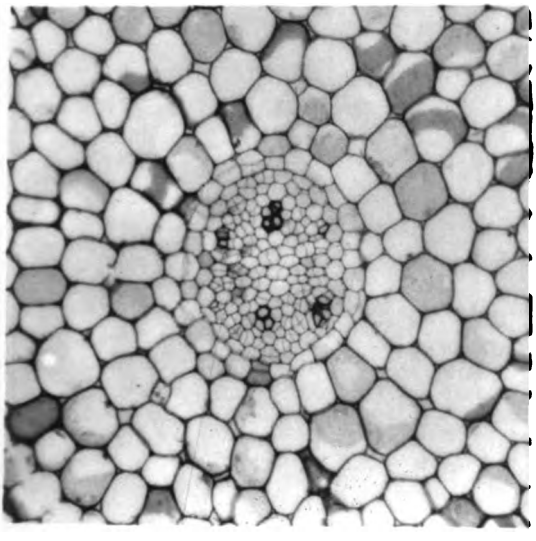
Phototypie Berthaud, Paris.

Hypéricacées.

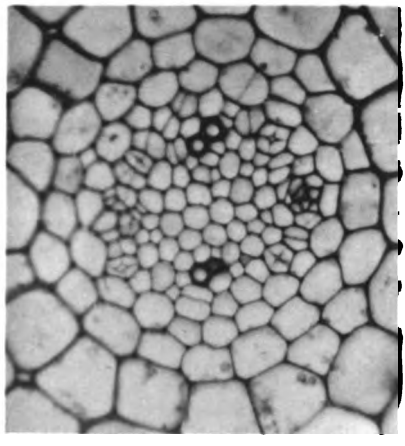
Masson & Cie, Éditeurs

Digitized by Google

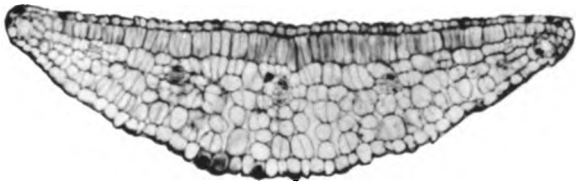
Digitized by Google



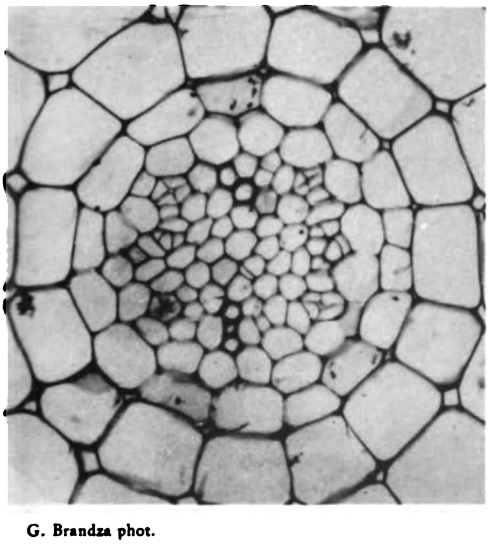
5.



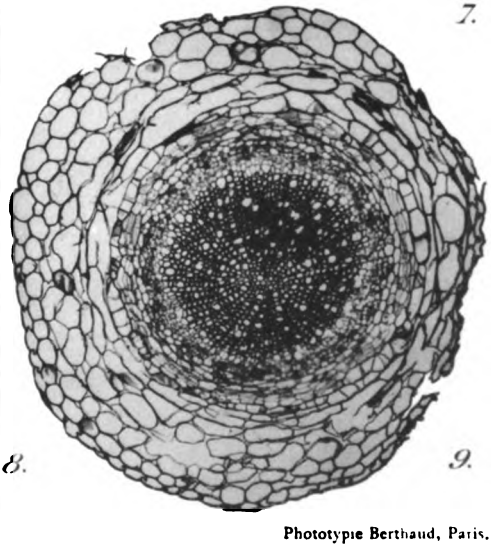
6.



7.



8.



9.

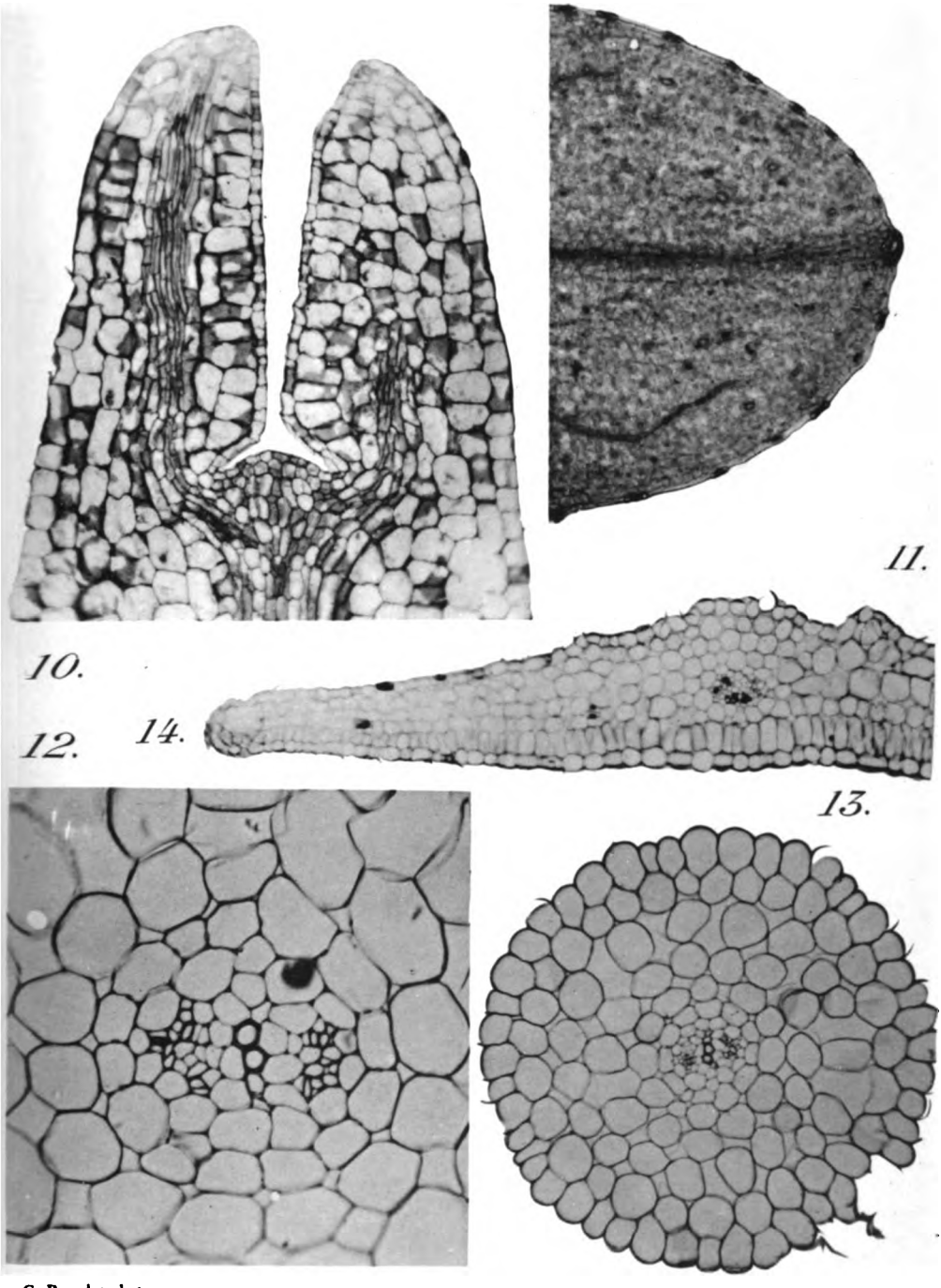
G. Brandza phot. Phototypie Berthaud, Paris.

Hypéricacées.

Masson & Cie, Éditeurs.

Digitized by Google

Digitized by Google



G. Brandza phot.

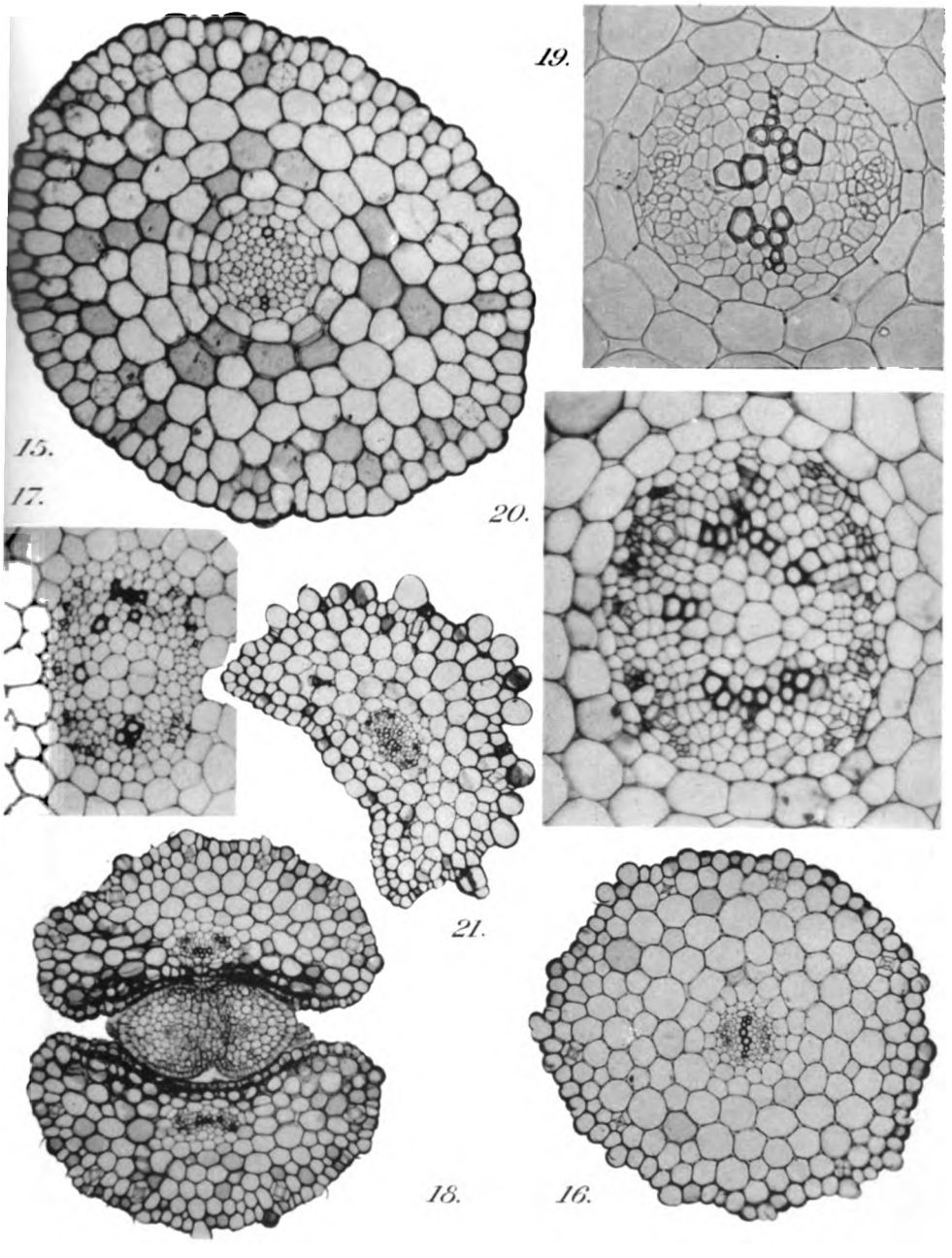
Phototypie Berthaud, Paris.

Hypéricacées.

Digitized by Google

Masson & Cie, Éditeurs

Digitized by Google



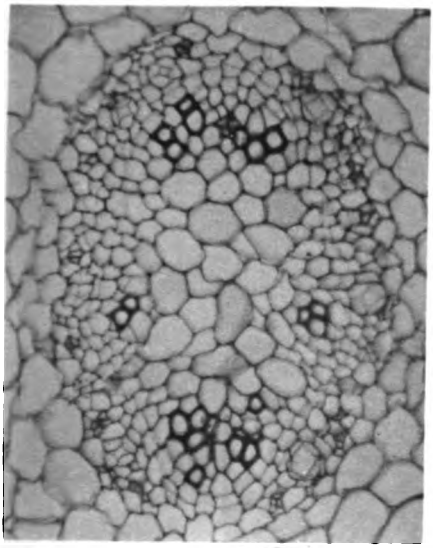
G. Brandza phot. Phototypie Berthaud, Paris.

Hypéricacées.

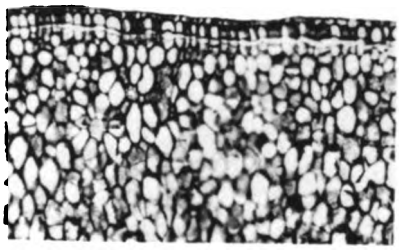
Masson & Cie, Éditeurs.

Digitized by Google

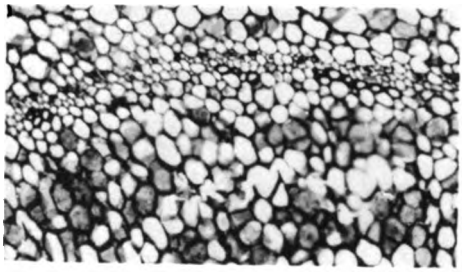
Digitized by Google



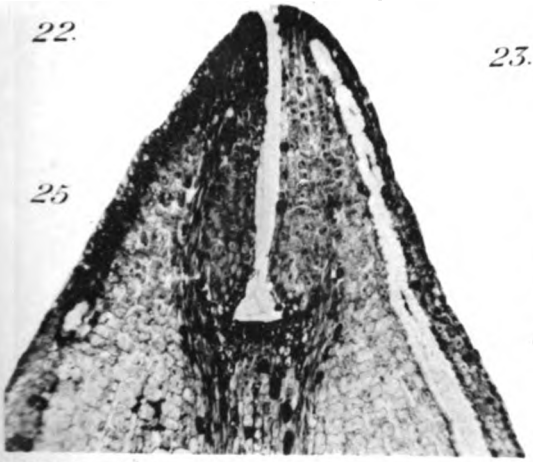
26.



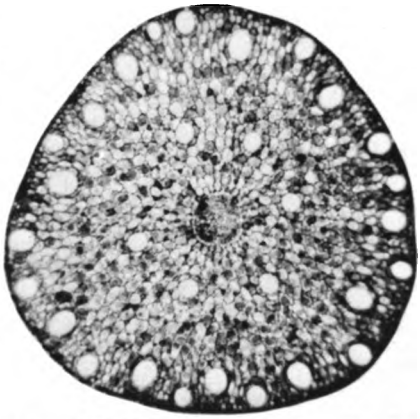
27.



22.

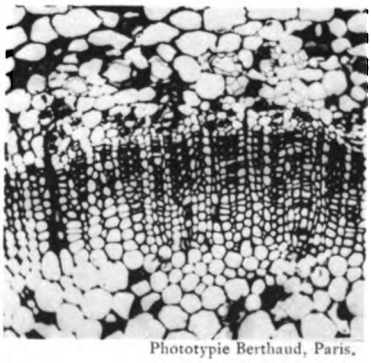


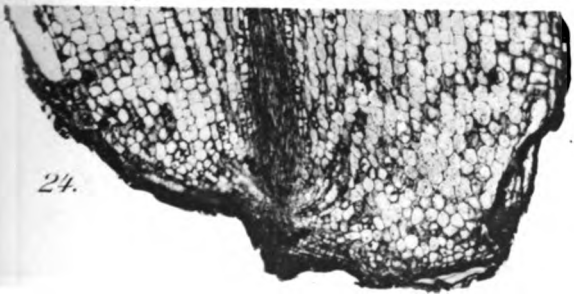
23.



25

28.





24.

G. Brandza phot

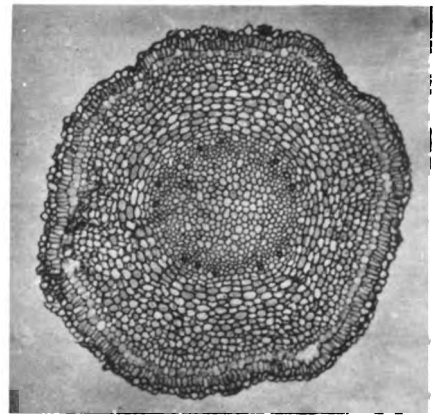
Phototypie Berthaud, Paris.

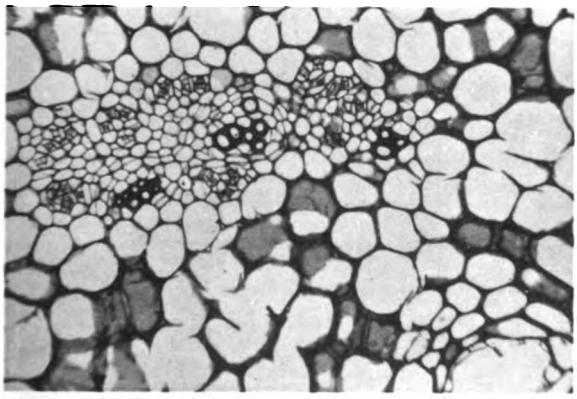
Hypéricacées (fig. 22). **Guttifères**.

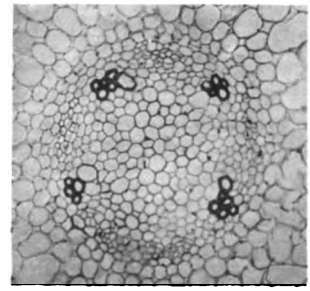
Masson & Cie, Éditeurs

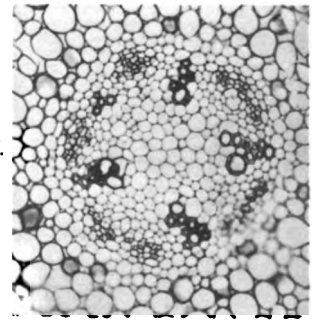
Digitized by Google

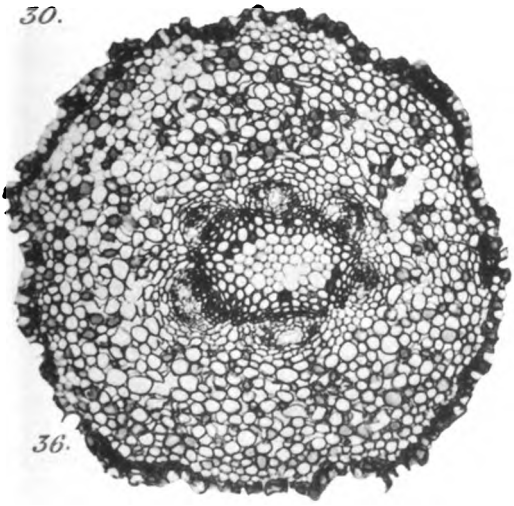
Digitized by Google

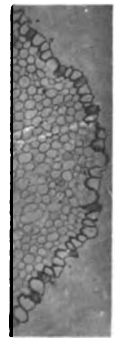


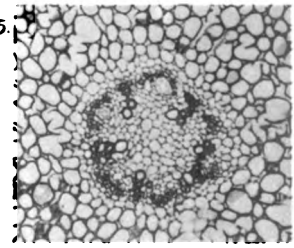












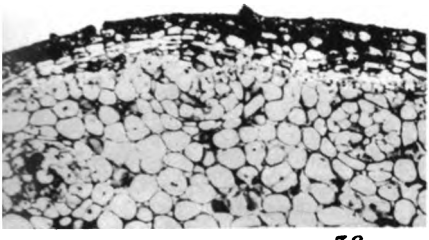
G. Brandza phot. Phototypie Berthaud, Paris.

Guttifères.

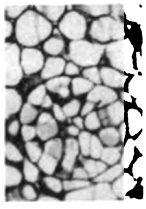
Masson & Cie, Éditeurs.

Digitized by Google

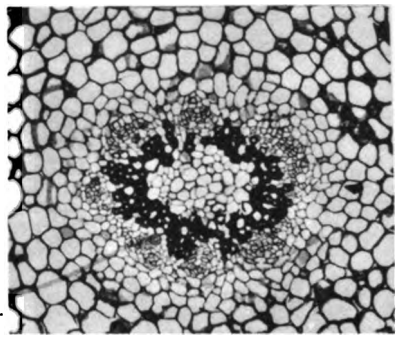
Digitized by Google



38.

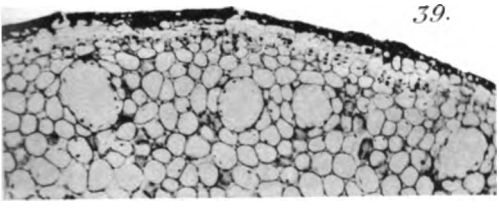


37.

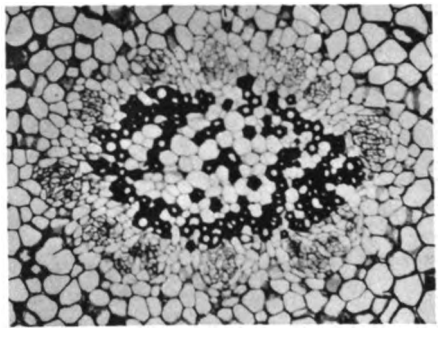


40.

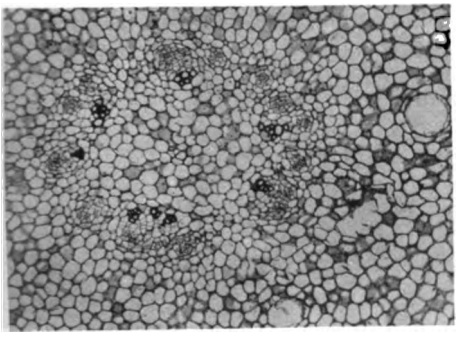
39.



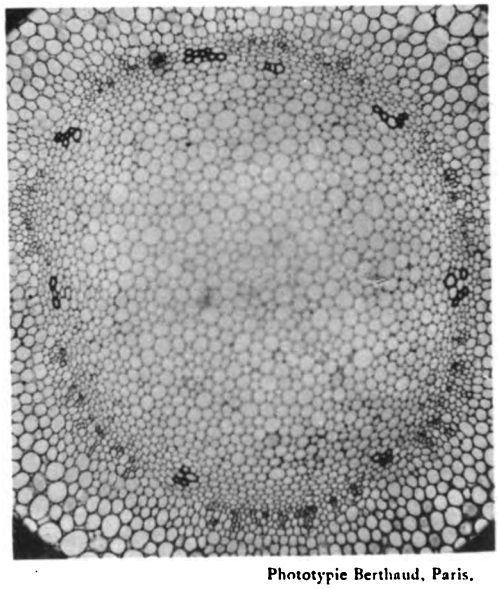
41.



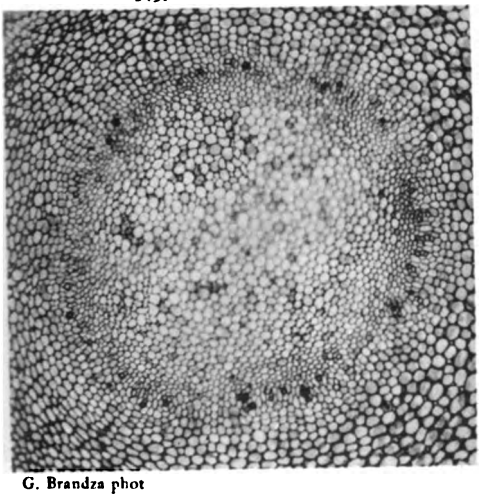
42.



44.



43.



G. Brandza phot

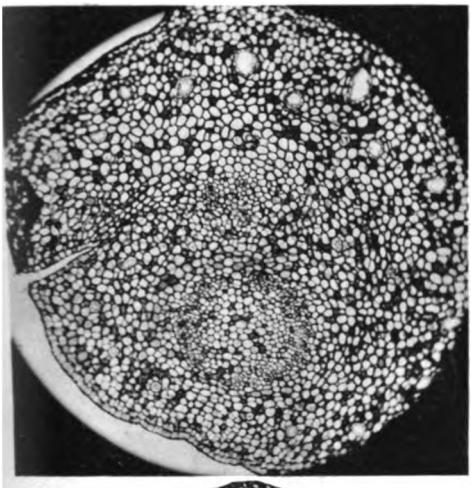
Phototypie Berthaud, Paris.

Guttifères.

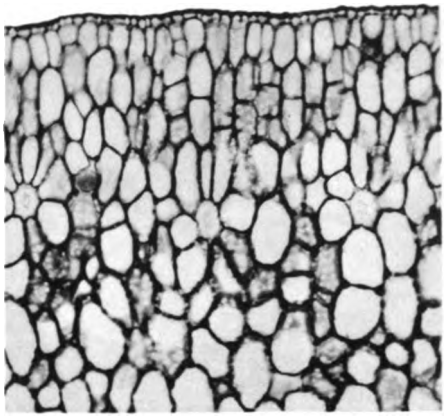
Masson & Cie, Éditeurs

Digitized by Google

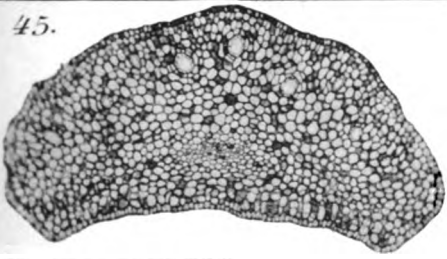
Digitized by Google



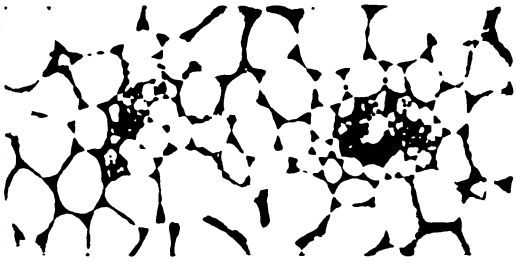
45.



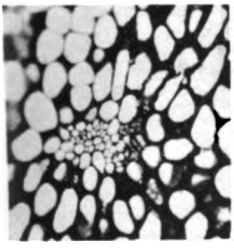
49.



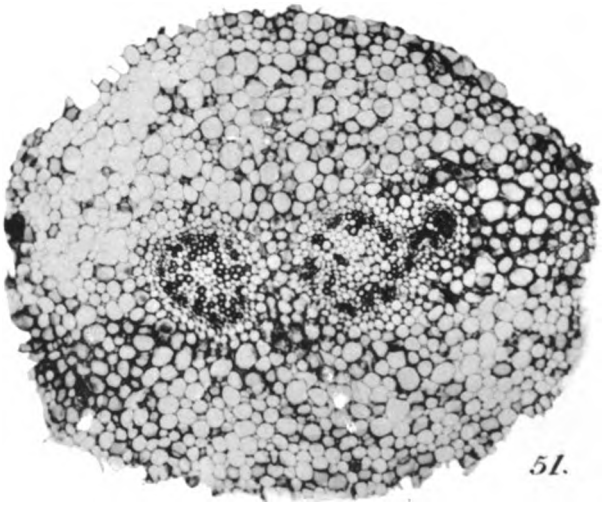
46.



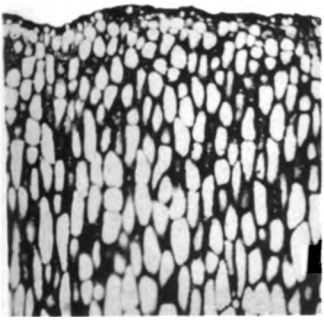
50.



48.



51.



47.

G. Brandza phot.

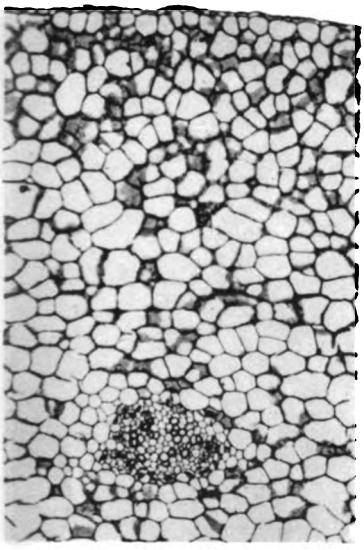
Phototypie Berthaud, Paris.

Guttifères.

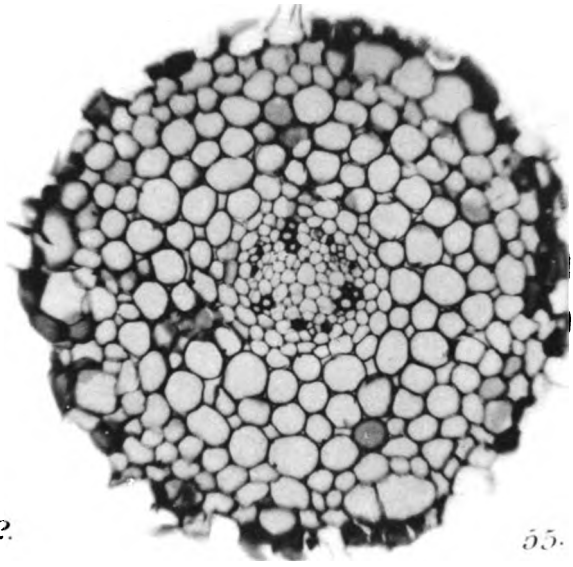
Masson & Cie, Éditeurs

Digitized by Google

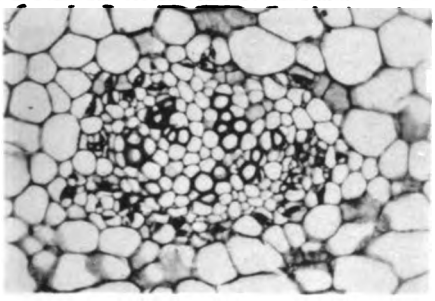
Digitized by Google



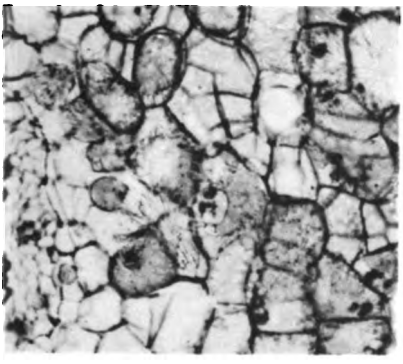
52.



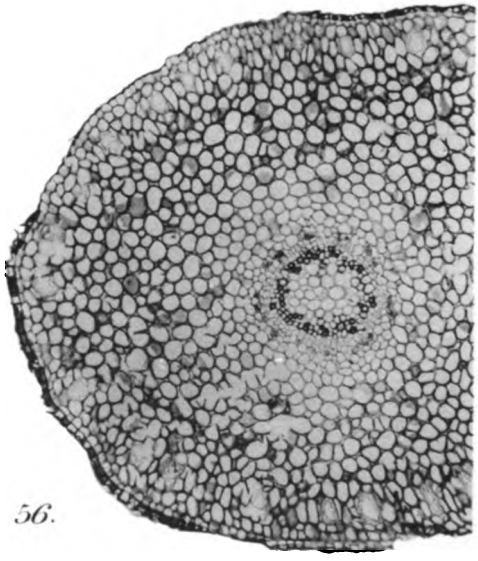
55.



53.



54.



56.

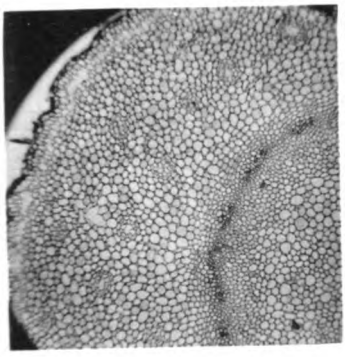
G. Brandza phot. Phototypie Berthaud, Paris.

Guttifères.

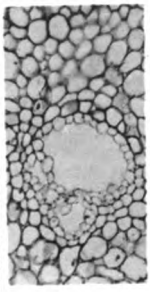
Masson & Cie, Éditeurs

Digitized by Google

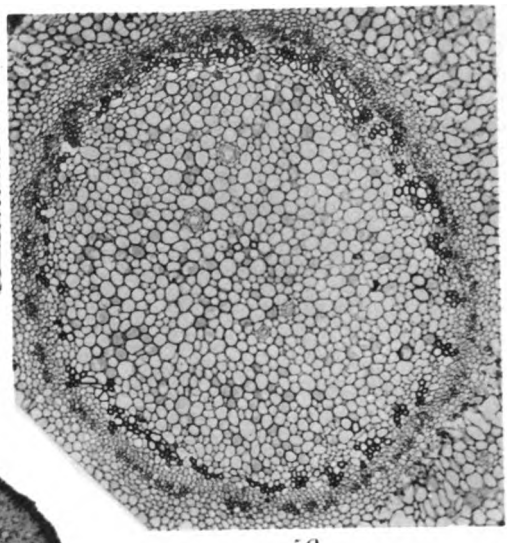
Digitized by Google



57.

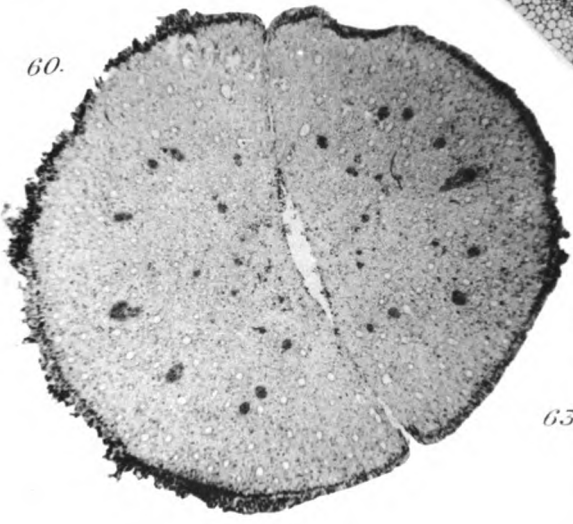


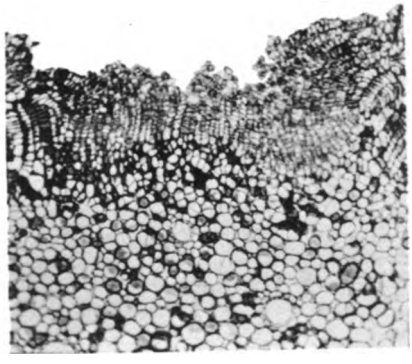
58.



59.

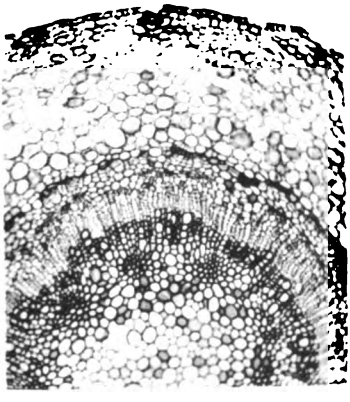
60.



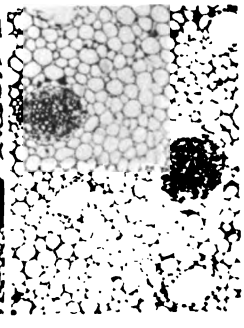


63.

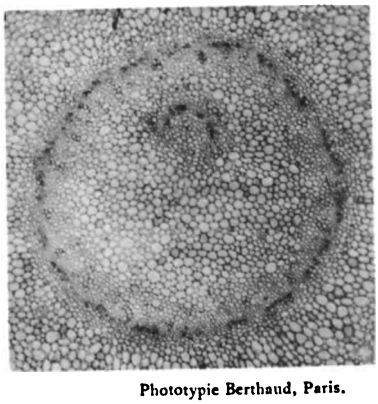
61.



62.



64.



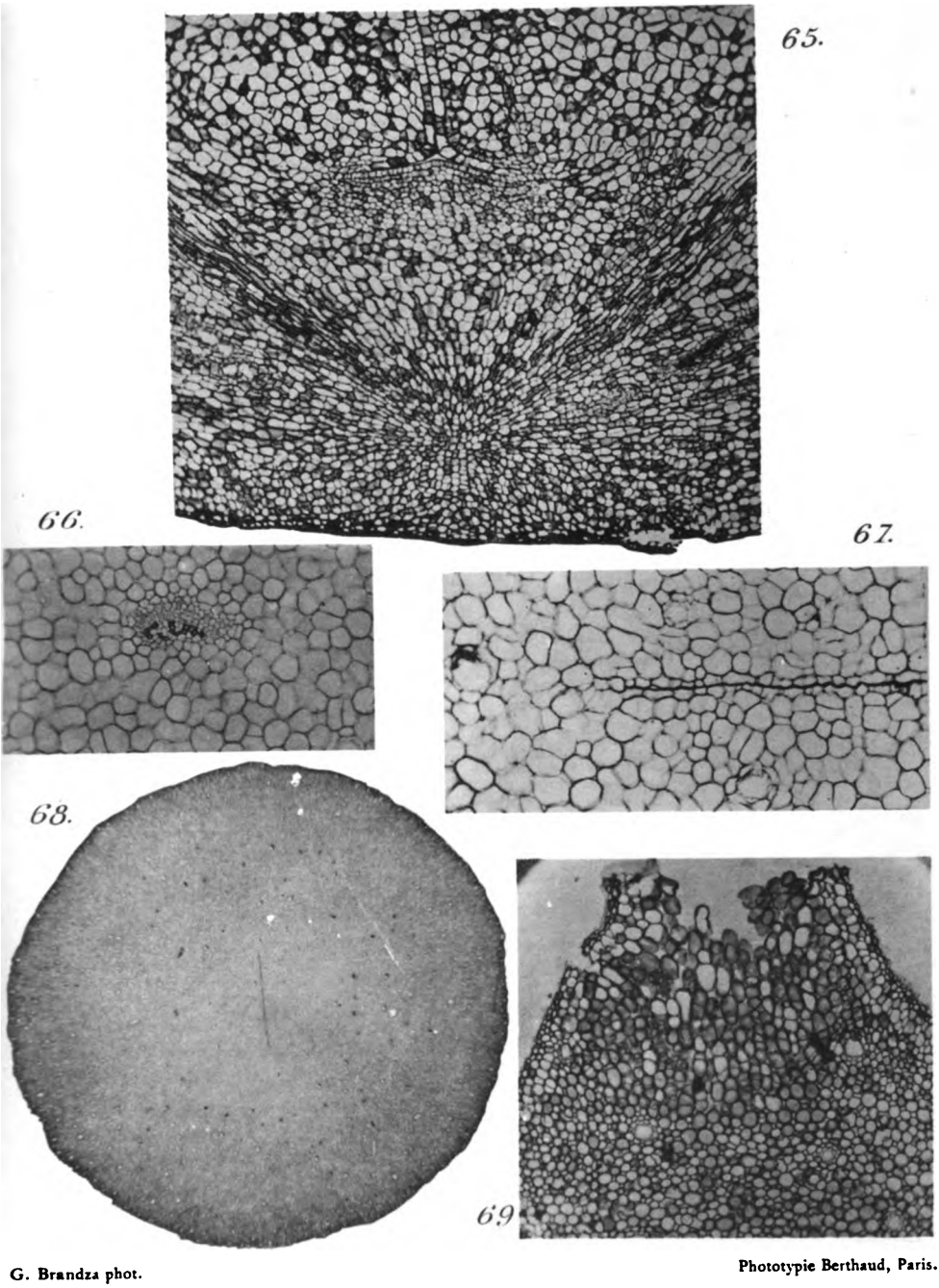
G. Brandza phot. Phototypie Berthaud, Paris.

Guttifères.

Masson & Cie, Éditeurs

Digitized by Google

Digitized by Google



G. Brandza phot.

Phototypie Berthaud, Paris.

Guttifères.

Masson & Cie, Éditeurs.

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google